

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LA COQUELUCHE (1)

par les docteurs

M^{me} INGEBORG CHIEVITZ
Assistante
à l'Institut sérothérapique de l'État
(Copenhague).

et

ADOLPH H. MEYER
Directeur de la 3^e Polyclinique
de l'hôpital d'enfants Reine-Louise
(« Dronning Louises Børnehospital »).

[Travail de l'Institut sérothérapique de l'État (directeur : le Dr Thorvald Madsen) et de la Clinique privée d'enfants du Dr Adolph H. Meyer, Copenhague.]

L'an dernier, nous avons publié, dans le journal danois *Hospitalstidende* (2), les recherches que nous avons faites à l'Institut sérothérapique de l'État, pour reconnaître si le microbe Bordet-Gengou était vraiment le microbe de la coqueluche, ainsi que MM. Bordet et Gengou l'avaient déjà soutenu en 1906, affirmation mise en doute plus tard de différents côtés.

Nos expériences portaient surtout sur des malades de la coqueluche qui, dès le mois de décembre 1913, avaient été reçus à la clinique privée, de concert avec la municipalité de Copenhague.

Nos recherches ayant confirmé la découverte de Bordet et Gengou, nous nous sommes considérés comme fondés à conclure que Bordet et Gengou avaient eu raison, en désignant comme bacille de la coqueluche le microbe décrit par eux.

(1) Conférence du Dr Adolph H. Meyer à la Société des médecins de Copenhague, 4 avril 1916.

(2) *Hospitalstidende*, 1915, n° 25.

*
* *

Indépendamment de notre travail, M. Giese, médecin départemental, a publié, en l'automne 1915, sa thèse : *Recherches sur le microbe Bordet et son apparition dans la coqueluche*. Lui aussi a, en général, pu confirmer les résultats obtenus par les savants belges.

A ce que nous savons, l'année passée n'a vu, à l'étranger, la publication d'aucune recherche nouvelle sur notre sujet. Nous allons donc communiquer les résultats obtenus par nous en continuant nos recherches. Nous avons continué notre collaboration sur les mêmes lignes que lors de nos premières recherches, l'un de nous (Meyer) ayant examiné l'expectoration des malades de clinique et entrepris les tentatives de culture pure, l'autre (Chievitz) ayant vérifié les cultures avec de l'immun-sérum et entrepris les tentatives de fixation de l'alexine. De plus, M^{me} Chievitz a dirigé la station de diagnostic de coqueluche à l'Institut de sérum.

*
* *

Nous commençons par donner un aperçu de la technique employée aux recherches.

Pour obtenir l'expectoration dans un état convenable aux recherches, on rabaisse la langue du malade pendant une quinte en la pressant avec une spatule métallique. Sur la spatule on recueille l'expectoration qui finit la quinte. L'expectoration est reportée dans un tube stérile, et bien délayée, avant l'investigation, dans une solution physiologique stérile de NaCl. On pêche alors un petit flocon, de préférence consistant et visqueux, destiné partie à l'investigation bactériologique, partie aux tentatives de culture.

Il n'est que rarement possible de diagnostiquer la coqueluche en examinant seulement la préparation de crachats rejetés. Nous reviendrons sur ce point.

Il est d'importance de se donner de la peine pour recueillir ce que nous appelons une bonne expectoration, c'est-à-dire une expectoration visqueuse et consistante, d'une consistance

gluante, mucopurulente et, autant que possible, sans mélange de mucus de l'arrière-bouche ou de la bouche, et sans mélange de restes d'aliments projetés.

Quelquefois un vomissement empêche de recueillir l'expectoration, et avec certains malades, il faut user de beaucoup de patience avant de réussir à se procurer une expectoration bien propre à l'investigation. Quelquefois on l'obtient facilement, si le malade a un accès de toux pendant qu'on est là.

Pour montrer l'existence du microbe par la culture, nous avons reporté un petit flocon d'expectoration dans une boîte de Petri, contenant le milieu recommandé par Bordet et Gengou : gélose-pomme de terre-sang. Seulement, au lieu du sang de lapin ou d'homme recommandé par Bordet et Gengou, nous nous sommes servis du sang de cheval stérile. Nous recommandons sans hésitation l'emploi du sang de cheval. On étend le flocon sur la surface de la gélose-sang et, de là, dans une ou deux boîtes de Petri contenant le milieu.

En préparant le milieu, il est d'importance de suivre soigneusement les indications de Bordet et Gengou. Faute de cette précaution, nos recherches restèrent pendant longtemps incertaines. Depuis quelque temps, nous essayons de simplifier la préparation, en nous servant de farine de pommes de terre au lieu de l'extrait de pommes de terre. Cette modification a paru utilisable, quoique le milieu de Bordet soit préférable.

On porte la boîte de Petri à l'étuve en l'examinant au bout de 2, de 3, de 4 jours. Si les microbes Bordet-Gengou ont poussé, ils se manifestent distinctement, au milieu de la pullulation de colonies de microcoques et de bacilles de grandeur différente couvrant la surface de la gélose-sang, comme des colonies polies et, si on y projette de la lumière, fortement luisantes et saillantes. Elles ressemblent tout à fait à des gouttelettes de mercure, quelquefois très nombreuses, quelquefois assez clairsemées. Au bout de 2 jours, on voit déjà assez bien les colonies, surtout en se servant d'une loupe, mais elles sont alors poussiéreuses et légèrement luisantes. Nous, qui depuis 2 ou 3 ans travaillons avec ces bacilles, nous trouvons les colonies très caractéristiques; en effet, elles nous paraissent tellement caractéristiques que nous sommes à même de reconnaître le microbe à l'apparence des colonies.

La grandeur des colonies varie, dépendant souvent de la qualité du milieu. Généralement, elles atteignent leur maximum au 4^e jour, elles ont alors 1 millimètre environ de diamètre, mais dans des cas exceptionnels, elles deviennent encore plus grandes.

Les bacilles d'une telle colonie sont très petits, ovoïdes, Gram négatifs, fortement aérobies. Ils se colorent faiblement, c'est-à-dire en lilas, au bleu de toluidine phéniqué. En quelques cas, mais non dans tous, les pôles paraissent colorés dans une préparation sèche, quoique plus souvent dans une préparation humide. La coloration polaire se perd généralement aux générations suivantes.

D'une colonie des boîtes de Petri, nous avons constamment tiré des cultures striées sur de la gélose-sang inclinée dans un tube à essais. 2 jours après, la culture pousse comme une strie blanche qui, plus tard, s'accroît dans le sens de l'épaisseur, sans cependant se répandre latéralement. Dans une cave glacière à $+ 3^{\circ}$, de telles cultures restent vivantes pendant 3 mois. A la température ambiante, elles se maintiennent encore plus longtemps si, au moyen de capsules de caoutchouc, on empêche le milieu du tube de se dessécher. A la culture, les microbes varient un peu de grandeur. Dans les vieilles cultures, ils se rapetissent souvent, ressemblant presque à des microcoques. Ils ont tendance à s'agglomérer. En effet, on ne rencontre pas de formes d'involution de microbes Bordet-Gengou cultivés sur la gélose-sang, contrairement à ce qui est le cas pour les microbes de l'influenza.

Partant des cultures pures, nous avonsensemencé sur gélose, sur bouillon, sur sérum et sur gélatine sans qu'il y ait eu de croissance. D'autre part, nous avons obtenu une bonne croissance sur gélose-ascite en employant un fil de platine raide dont on enduisait bien la surface. Pourtant, pour les cultures un peu vieilles, nous avons réussi à les faire pousser sur gélose après un séjour à l'étuve de huit jours. A ce qu'on dit, elles poussent aussi sur d'autres milieux de laboratoire.

Nous avons réussi à obtenir une bonne croissance de bacilles sur le bouillon d'œuf recommandé par Besredka. Ils y forment un dépôt muqueux. De la gélose-sang nous avons souvent reporté les bacilles sur le bouillon au sérum, suivant l'indica-

tion de Bordet-Gengou. Les bacilles y forment un dépôt visible qui est blanc et aggloméré en paquets. Les bacilles d'une telle culture prennent des formes d'involution.

Pour vérifier les bacilles, nous avons examiné le pouvoir agglutinant de chaque culture au moyen d'une immun-sérum de lapin préparé par M^{me} Chievitz et qui agglutinait nos cultures jusqu'à 1 : 5.000. La plupart des cultures s'agglutinaient à 1 : 5.000, quelques-unes étaient moins disposées à l'agglutination. En répétant les ensemencements pendant un certain temps, plusieurs des cultures ont perdu, ainsi que Bordet l'a fait remarquer, leur faculté de s'agglutiner. Les premières cultures ont été vérifiées par l'immun-sérum de cheval de Bordet, qui a été assez aimable pour nous en envoyer une petite portion.

M. le professeur Bordet a été assez aimable pour vérifier les premières cultures trouvées par nous. Plus tard, il nous a envoyé une petite bouteille d'immun-sérum de cheval qui agglutinait fortement les microbes et dont nous avons pu nous servir pour la détermination de nos cultures. Malheureusement, cet immun-sérum ne s'est pas conservé longtemps. Nous en avons perdu une partie dans une série de vaines tentatives d'agglutination avec quelques vieilles races de laboratoire que nous avait envoyées l'Institut Pasteur de Bruxelles. Ces cultures avaient perdu leur faculté de s'agglutiner et leur pouvoir agglutinogène, éventualité qu'à ce moment nous n'avions pas clairement prévue et qui nous a fait perdre encore plus de temps, parce que nous avons fait avec ces cultures de nombreuses tentatives infructueuses d'immunisation avec des lapins. Des tentatives d'immunisation postérieures avec nos propres cultures nous ont donné beaucoup de peine, les lapins mourant souvent d'anaphylaxie, lorsque, suivant les indications de Bordet et Gengou, nous employons à l'injection des cultures de bouillon au sérum soit intraveineusement, soit intrapéritonéalement. Nous avons pourtant obtenu un sérum faiblement agglutinant (1/500) au moyen d'injections intrapéritonéales sur un lapin.

Par contre, nous avons mieux réussi en injectant intraveineusement dans des lapins une grande quantité d'émulsions bactériennes (délayage de culture de gélose-sang vieille de quarante-huit heures dans une solution physiologique stérile de NaCl). Nous avons ainsi obtenu un sérum fortement agglutinant et que, depuis, nous avons employé en déterminant nos cultures.

Il est d'une importance toute particulière, dans les tentatives d'agglutination avec le microbe Bordet-Gengou, d'avoir toujours des tubes témoins avec un délayage bactérien dans une solution physiologique stérile de NaCl sans sérum, une suspension de microbes en apparence homogène donnant souvent une agglutination spontanée si elle est laissée en repos, particulièrement à 37°. On fait la lecture après avoir laissé les tubes deux heures au bain-marie à 37° C., avant que les microbes agglutinés se soient précipités si on laisse reposer assez longtemps, tant au bain-marie qu'à la température ordinaire du laboratoire, un précipité se forme aussi dans les tubes

où il n'y a pas d'agglutination, précipité qui, si on l'agite, simule facilement une agglutination. Les immun-sérums ne donnent d'agglutination avec aucun des autres microbes que nous avons essayés (microbes de l'influenza, colibacille, staphylocoques cultivés sur le milieu Bordet-Gengou).

Nous avons fait quelques tentatives de fixation de l'alexine avec des lapins immunisés. La fixation de l'alexine avec des sérums d'animaux s'est trouvée être sans importance pour la vérification des microbes, fait sur lequel il faut insister, quelques auteurs déclarant s'être servis de cette méthode. Ainsi, avec l'immun-sérum de cheval de Bordet donnant la fixation de l'alexine même avec des émulsions du microbe Bordet-Gengou très étendues, nous avons aussi obtenu la fixation de l'alexine avec le microbe de l'influenza du lapin de Kraus, avec le microbe de Pfeiffer et avec un bâtonnet qui souvent souillait nos milieux. On a aussi essayé ces deux derniers microbes sur des sérums de malade positifs, mais le résultat en était absolument négatif. Les sérums de lapin ne sont pas propres à l'étude de la fixation de l'alexine avec le microbe Bordet-Gengou, le sérum de lapin neuf donnant fréquemment un résultat positif.

Il est d'importance, tant dans les tentatives d'agglutination que dans les tentatives de la fixation de l'alexine, de se procurer une émulsion complètement exempte de gélose-sang. Pendant son séjour à Copenhague en 1914, M. le professeur Bordet nous a appris à racler les microbes du support avec un mince bâton en verre lisse et stérile (par exemple, une pipette de Pasteur rougie et refroidie) et de les reporter dans une solution physiologique stérile de NaCl. Nous avons perdu pas mal de temps faute de connaître la méthode bien propre à former une bonne émulsion.

Presque dans chaque cas nous avons fait l'examen bactérioscopique avec l'expectoration; mais à part un très petit nombre de cas de coqueluche récente chez des poupons, desquels les microbes ont paru presque en culture pure dans l'expectoration, et groupés partie autour des leucocytes, partie au milieu d'eux et partie en bancs de poissons entre des formations réticulées d'épithélium desquamé, conformément à la description de Weil, il n'a pas été possible de faire avec sûreté le diagnostic par la bactérioscopie. Dans la plupart des cas on trouve une telle quantité de microbes différents, et surtout de microbes ressemblant aux microbes de l'influenza, qu'on ne peut faire qu'une supposition, sans avoir de certitude.

Malgré de nombreuses recherches, M. Giese n'a pas réussi non plus à faire servir à un diagnostic sûr l'examen bactérioscopique de l'expectoration des malades de la coqueluche.

En général, on ne pourra donc faire le diagnostic qu'à la culture, c'est-à-dire au bout de deux jours au plus tôt.

* * *

C'est donc au moyen de l'apparence des colonies, des particularités morphologiques des microbes, de leur mode de croissance sur gélose-sang, de leur rapport à d'autres milieux, de leur colorabilité et de l'agglutination avec des immun-sérums que nous avons déterminé nos cultures. Nous allons maintenant donner le résultat de l'examen d'expectoration bactériologique indiqué aux tableaux I-II.

A la clinique on a recueilli, de la manière décrite ci-dessus, l'expectoration de 156 malades. Comme plusieurs des malades ont été examinés plusieurs fois, il s'agit de 205 examens d'expectations en tout.

Après une à deux semaines de toux (la toux comptée dès le commencement de la période catarrhale), on a examiné 27 malades. Chez 24, on a

TABLEAU I.

DURÉE DE LA TOUX	NOMBRE de MALADES	BACILLES de la COQUELUCHE	CAS non COMPLIQUÉS	CAS COMPLIQUÉS	PAS DE BACILLES de la COQUELUCHE	CAS non COMPLIQUÉS	CAS COMPLIQUÉS
1 à 2 semaines	27	24	47	7	3	2	1
2 à 3 semaines	33	24	10	14	9	5	4
3 à 4 semaines	27	9	5	4	18	9	9
4 à 5 semaines	27	9	2	1	24	12	12
5 à 6 semaines	12	1	1	0	41	6	5
6 à 7 semaines	6	0	6	3	3
7 à 8 semaines	5	0	5	3	2
2 à 3 semaines	41	0	41	8	3
3 mois.	8	0	8	5	3
(Y compris 3 récidives.)							
	156	95	53	42

TABLEAU II.

DURÉE DE LA TOUX	NOMBRE de RECHERCHES	BACILLES de la COQUELUCHE	CAS non COMPLIQUÉS	CAS COMPLIQUÉS	PAS DE BACILLES de la COQUELUCHE	CAS non COMPLIQUÉS	CAS COMPLIQUÉS
1 à 2 semaines	34	27	19	8	7	5	2
2 à 3 semaines	40	26	12	14	14	8	6
3 à 4 semaines	37	12	5	7	25	14	11
4 à 5 semaines	36	3	2	1	33	17	16
5 à 6 semaines	48	1	1	17	8	9
6 à 7 semaines	43	0	13	8	5
7 à 8 semaines	7	0	7	5	2
2 à 3 mois	12	0	12	9	3
3 mois	8	0	8	5	3
	205	69	39	30	136	79	57

réussi à isoler le microbe Bordet-Gengou. De ces 24, 17 étaient des cas sans complication, 7 se compliquaient de bronchite. Pour 3 cas, la culture pure n'a pas réussi. Deux étaient sans complications, un cas était compliqué.

Après 2 à 3 semaines de toux, on a examiné 33 malades. On a isolé le microbe chez 24. De ces 24 cas, 10 étaient sans complication, 14 étaient compliqués de bronchite ou de broncho-pneumonie. Chez 9, à savoir 5 cas non compliqués et 4 cas compliqués, la culture n'a pas réussi.

Après 3 à 4 semaines de toux, on a examiné 27 malades. Chez 9, à savoir 5 non compliqués et 4 compliqués, on a isolé le microbe. Chez 18 (9 non compliqués et 9 compliqués) on n'a pas démontré l'existence des microbes à la culture.

Sur 69 malades dont la toux avait duré plus d'un mois, à savoir 27, de 4 à 5 semaines ;

12, de 5 à 6 semaines; 6, de 6 à 7 semaines; 5, de 7 à 8 semaines; 19, plus de 2 mois, parmi lesquels il y avait 3 récidives, la culture pure n'a réussi que pour 3 malades qui, à ce qu'on nous disait, avaient toussé de 4 à 5 semaines et pour 1 malade qui avait toussé de 5 à 6 semaines; de ce groupe 37 étaient non compliqués, 32 des cas compliqués.

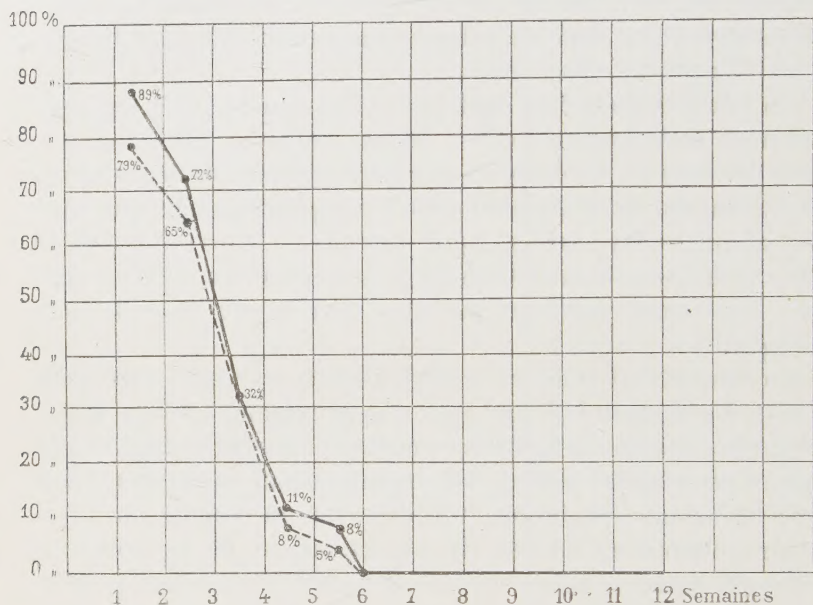
Chez quelques malades qui avaient toussé de 4 à 5 semaines, nous avons cru, malgré une complication de bronchite, avoir pu montrer l'existence du microbe bactérioscopiquement; mais la culture pure n'a pas réussi.

En général, le même malade n'a été soumis qu'à un seul examen; mais quelquefois le même malade a été soumis à deux ou trois ou à plusieurs examens d'expectoration. Cependant, dans ce cas, le résultat a été à peu près le même que pour les examens non répétés. Après que les malades ont toussé de 4 à 5 semaines, les tentatives de culture pure n'ont pu démontrer l'existence des microbes que chez le seul malade déjà indiqué.

En considérant le nombre total d'essais on verra, ainsi qu'il résulte du tableau II, que nous avons examiné 34 expectorations dans les deux premières semaines de maladie, dont 27 ont donné un résultat positif, 40 expectorations de la deuxième à la troisième semaine de maladie avec un résultat positif de robesmic isolés en 26 cas, 37 expectorations de la troisième à la quatrième semaine de maladie avec 12 résultats positifs de microbes isolés. Nous avons examiné 94 expectorations après plus de 1 mois de toux; les seuls résultats positifs de microbes trouvés furent les 4 cas décrits plus haut.

Il résulte des tableaux que nous avons quelquefois réussi, pour chacun des premiers trois groupes, à démontrer l'existence des microbes en cultivant dans l'expectoration un ou deux jours, avec insuccès le troisième jour. De même, on a pu démontrer l'existence de microbes en cultivant certaines parties d'une expectoration, tandis que d'autres parties n'ont rien donné. Quelquefois, nous avons essayé de conserver l'expectoration pour l'examiner un ou plusieurs jours après, et dans un cas isolé nous avons réussi à obtenir après trois jours la culture pure de microbes d'une expectoration délayée dans une solution physiologique stérile de NaCl. Mais les microbes peuvent

aussi rester vivants dans une expectoration (desséchée, jusqu'à trois jours durant. M^{me} Gouralska, médecin polonais, qui nous a assistés à l'Institut de sérum, a démontré ce fait, ces derniers temps, dans deux cas. C'est un point qui sans doute sera d'une grande importance pratique, vu qu'il prouve la possibilité théorique de la transmission par des objets et des personnes autres que le malade. En général, les microbes paraissent



COURBE I.

assez résistants. Ainsi une émulsion supporte le traitement par 2 p. 100 de phénol pendant 30 minutes. Au contraire, 1/4 p. 1.000 de sublimé est à même d'arrêter très vite la croissance des microbes.

Voici en quelques traits le résultat des recherches d'expectoration à la clinique, ainsi que l'indique la courbe I (la courbe supérieure indique le nombre total de malades, la courbe inférieure, le nombre total des recherches). *Chez les malades qui ont toussé pendant les 1^{re}-2^e semaines, c'est-à-dire qui ont eu des quintes caractéristiques pendant 1 semaine tout au plus, nous avons pour ainsi dire toujours pu obtenir les microbes en culti-*

vant. Chez les malades qui ont toussé convulsivement pendant 2 semaines environ, les microbes ont été obtenus dans deux tiers, à peu près, des cas; chez les malades qui sont à la 3^e semaine de la période convulsive dans un tiers, à peu près, des cas. Dans la 4^e semaine de la période convulsive nous n'avons réussi à démontrer l'existence des microbes en cultivant que 3 fois d'entre 36 examens. Plus tard, sur 58 examens, nous n'avons réussi qu'une fois à obtenir une culture pure des microbes de l'expectoration, chez un seul malade qui avait toussé de 5 à 6 semaines, à la 40^e journée de la maladie, et encore nous n'avons trouvé qu'une seule colonie à la boîte de Petri.

Des bronchites et des broncho-pneumonies répandues semblent entraver la culture pure, ce qui n'est pas exprimé aux tableaux, où l'intensité des complications ne se lit pas.

. . .

Nous avons dit déjà que le premier groupe se compose de 27 malades, parmi lesquels on a démontré l'existence des microbes chez 24. Ce sont des malades qui ont toussé de 1 à 2 semaines. Dans la grande majorité des cas il s'agit de malades qui ont toussé en accès ayant duré de quelques jours jusqu'à une semaine. Pour quelques individus seulement il s'agit de malades aux derniers jours de la période catarrhale. On sait que le plus souvent il est impossible de se procurer l'expectoration du commencement de la période catarrhale. Les enfants toussent suffisamment, mais n'expectorent pas. Les tentatives faites pour obtenir une expectoration en cette période échouent, en général, complètement, et la mucosité qu'on obtient dans ce cas de l'arrière-bouche et du nez ne contient généralement pas de microbes Bordet-Gengou, fait que nous avons vérifié en examinant des malades privés et des échantillons d'expectoration qu'on nous a envoyés du dehors.

Comme il est hors de doute que, dans cette période, les malades sont contagieux, il serait de la dernière importance, dans cette toute première période, de pouvoir démontrer l'existence des microbes, et à cet effet, nous nous sommes, ces derniers temps, servis d'une méthode dont l'idée nous a été

suggérée accidentellement par notre jeune collègue, M. Emil Mauritzen.

Le 11 février, l'un de nous (Meyer) a fait tousser 7 enfants, habitant un asile d'enfants et qui étaient dans la période catarrhale, contre des boîtes de Petri contenant des milieux, chaque enfant contre 1 boîte. La boîte était tenue à 10 centimètres des bouches des malades, et on a fait tousser la plupart des enfants en leur mettant une cuiller sur la langue. Quelques-uns d'entre eux toussaient spontanément. Jusqu'à 5 boîtes sur 7 ont montré des colonies de microbes Bordet-Gengou, poussant mêlées à d'autres colonies. Fait d'un intérêt tout particulier, au 4^e jour les colonies étaient plus grandes qu'à l'ordinaire, et par cette raison même, elles ont été sur le point d'échapper à notre attention. Probablement le transport direct des microbes des malades sur le milieu y a joué un rôle. Cependant les microbes étaient caractéristiques et s'agglutinaient avec notre immun-sérum.

Ce procédé, que nous proposons d'appeler *ensemencement par projection de gouttelettes*, est simple et facile; il ne gêne pas les malades et peut être appliqué par la mère ou par une garde-malade. Nous avons essayé la méthode plus tard avec le résultat que voici : 32 malades ont été examinés à la période catarrhale; chez 27 d'entre eux, des colonies Bordet-Gengou poussaient sur les boîtes; chez 5, il n'y avait pas de croissance; chez 1 de ces 5, la méthode a réussi 12 jours après, lorsque le malade était dans la seconde semaine de la période convulsive; chez les 4 autres malades l'examen n'a pas été renouvelé.

Chez plusieurs malades qui, en réalité, n'avaient pas la coqueluche, mais, ainsi que l'a prouvé la marche de la maladie, une toux de rhume ordinaire, l'essai fut, comme cela était à présumer, négatif. Chez 5 malades aux 1^{re} et 2^e semaines de la période convulsive, l'essai fut positif; chez 2, négatif. Chez quelques malades dans une période avancée de la coqueluche, le résultat fut négatif.

Dans 1 des cas positifs la malade n'avait toussé que 2 jours lorsqu'elle toussa contre le milieu; dans un autre cas, la toux avait duré 3 jours en tout; en 2 cas, 4 jours; en 2 cas, 6 jours; dans le reste des cas, de 7 à 14 jours. Mais dans aucun des 27 cas positifs le diagnostic n'était sûr quand on a fait l'essai.

En général, les colonies ont moins d'éclat que lorsqu'elles proviennent de l'expectoration et, le plus souvent, elles sont plus grandes, ce qui, nous l'avons dit déjà, est dû probablement à l'ensemencement direct. Le nombre en variait beaucoup, de 2 ou 5 jusqu'à la pullulation. Très souvent, les colonies étaient déjà visibles 2 jours après. Ce fait est extrêmement important au point de vue diagnostique. Des médecins qui, de concert avec nous, se sont servis de la méthode, ont été très contents d'avoir le diagnostic aussi vite.

A notre avis, il est hors de doute que la méthode d'infection par gouttelettes sera importante pour le diagnostic de la coqueluche au commencement de la maladie. Qu'il faille l'essayer aussi dans d'autres maladies contagieuses qui, à ce qu'on pense, se gagnent par une infection par gouttelettes (par exemple, la rougeole), c'est ce que nous nous contentons d'indiquer en passant.

. . .

On sait que, si la maladie a duré un mois environ, le microbe n'apparaît pas aux tentatives de culture pure. Ce fait signifie-t-il que le microbe ait disparu et que, par conséquent, la maladie ne soit plus contagieuse? Cette question très importante, nous l'avons traitée brièvement dans notre mémoire précédent.

Nous avons été de plus en plus confirmés dans notre supposition que, règle générale, la coqueluche n'est contagieuse que de 4 à 5 semaines. D'une part, on a fait sortir de la clinique des malades, les renvoyant chez eux et aussi à des asiles d'enfants, après que la période convulsive avait duré environ 4 semaines, sans qu'ils y aient propagé la maladie, tout en ayant encore de fortes quintes accompagnées de vomissements. D'autre part, cette année, 33 malades qu'on a reçus à la clinique pour y constater s'ils avaient la coqueluche, et qui ne l'avaient pas, y ont été mêlés à des malades ayant une vieille coqueluche, sans qu'un seul cas de contagion s'y soit produit. Et nous avons déjà vu que des malades, reçus comme suspects de coqueluche ou gardant des restes superposés de la maladie sans l'avoir, ont pu séjourner 1 à 2 mois parmi des

malades ayant une vieille coqueluche sans être atteints. En effet, ce n'est que lorsqu'on a reçu un malade de la coqueluche avec une coqueluche récente et à son début, c'est-à-dire à la période catarrhale ou au commencement de la période convulsive, qu'ils ont été atteints. Nous avons publié des cas de ce genre en 1915.

Tout médecin qui connaît l'état des choses dans un hôpital d'enfants sait combien il y a peu de danger que des enfants reçus avec une broncho-pneumonie dans une période avancée de leur coqueluche, qui ne se démasque qu'après la cessation de la pneumonie, propagent la maladie.

Quant à la question pratique très importante des porteurs des microbes, il n'est pas facile d'y répondre. Jusqu'à présent, nous n'avons pu, en examinant la muco-sité de la bouche et de l'arrière-bouche, démontrer l'existence du microbe par la culture chez les gardes-malades] de l'hôpital, et dans les cas de catarrhes légers des voies aériennes que nous avons examinés, 45 en tout, nous n'avons jamais pu démontrer l'existence du microbe Bordet-Gengou.

Il n'est pas douteux que, dans des cas rares, les malades pourront être porteurs de microbes au delà de 5 semaines. Pourtant, jusqu'à présent, nous n'avons rencontré qu'un seul cas et, au bout du 40^e jour de la maladie, nous n'avons plus trouvé de microbes chez ce malade malgré des recherches répétées. La méthode d'ensemencement par gouttelettes pourra aussi servir à l'éclaircissement de ce point, et nous ferons plus tard des essais à cet effet.

Nous prévoyons une objection : le fait que les microbes ne se laissent cultiver qu'exceptionnellement après 5 semaines de toux ne prouve pas qu'il n'y en ait plus. En effet, il se pourrait que le nombre en soit tellement restreint que la culture en soit difficile, ou bien que la croissance d'autres microbes les cache, en d'autres mots que la méthode soit trop grossière. On pourrait aussi — et à bon droit peut-être — soutenir que notre matériel est encore trop petit. C'est aux expériences de donner la réponse. Nous avons déjà dit que, jusqu'à présent, la pratique semble correspondre à la théorie, et jusqu'à nouvel ordre nous considérons comme fondée l'opinion que, généralement, la coqueluche ne reste infectieuse que 5 semaines. Ainsi, quand la

période convulsive a duré un mois, nous n'hésiterons pas à permettre aux enfants d'aller en classe, d'être conduits aux crèches et aux salles d'asile, si deux examens d'expectoration ne donnent pas de résultat positif de microbes trouvés (1).

Toute cette question joue un grand rôle pratique, et en parcourant la littérature à ce sujet on trouve des opinions très divergentes. Il n'est pas rare que des auteurs considèrent la coqueluche comme contagieuse tant que durent les quintes. D'autres, au contraire, pensent qu'à la période convulsive les malades ne propagent pas la maladie.

Les recherches d'expectoration entreprises par nous sont, à notre avis, très importantes, mais nous considérons comme naturel de l'approfondir par la continuation de nos recherches.

On pourra se servir des tentatives de culture par la méthode d'ensemencement par gouttelettes pour éclaircir ce point.

. . .

Nous allons maintenant traiter cette question : Jusqu'à quel point peut-on diagnostiquer la coqueluche par des essais sur le sang?

Touchant l'agglutination de microbes coquelucheux avec du sérum de malade ou de convalescent, Bordet et Gengou étaient assez réservés. Une agglutination, peu considérable, pouvait avoir lieu, mais manquait souvent. Par la suite d'autres chercheurs, cependant, ont trouvé assez souvent une agglutination faible. Giese aussi a eu, quelquefois, de l'agglutination, mais non pas constamment.

Nos recherches nous ont montré que, généralement, l'agglutination ne se produit pas. Dans les cas de coqueluche, la recherche de l'agglutination ne joue donc pas de rôle pratique.

Quant à l'autre méthode de l'examen du sang, la fixation de l'alexine, on sait que Bordet et Gengou insistaient surtout sur

(1) A notre grande satisfaction le Ministère de l'Instruction publique, dans son décret du 15 mars 1916 concernant les écoles et maladies contagieuses, a suivi notre procédé pour la coqueluche par suite de nos recherches. Tandis que, autrefois, les enfants étaient retenus chez eux tant que durait la toux caractéristique de la coqueluche, ils pourront à l'avenir fréquenter l'école si la période convulsive a duré quatre semaines.

ce qu'une émulsion de leurs microbes comme antigène provoquait la fixation de l'alexine dans un système hémolytique avec un sérum du sang de malades et de convalescents de la coqueluche. Ceci, qui était important tant pour l'étiologiste que pour le diagnostic, fut contesté plus tard par certains investigateurs, entre autres par des savants de l'Institut sérothérapique de Vienne, et de l'Institut Rockefeller, de New-York. C'était, entre autres choses, pour examiner ce qui en était que nous avons autrefois entrepris notre travail.

Dans notre premier mémoire, nous avons dit que, par une émulsion d'une densité assez grande, correspondant à 2.000 millions de microbes environ par cent. cube, nous avons obtenu un résultat positif chez 22 malades sur 23, examinés de la fin du premier mois de la maladie jusqu'à 3 mois, à peu près, après le commencement de la maladie. De 102 essais témoins tous étaient négatifs, à part 1 qui provenait d'une femme âgée de vingt-neuf ans, qui avait eu la coqueluche dans son enfance.

L'antigène a été fraîchement préparé pour chaque jour d'essai d'une culture de gélose-sang vieille de quarante-huit heures. Cette émulsion, dont la densité, nous venons de le dire, correspondait à 2.000 millions, à peu près, de microbes par cent. cube, était employée dans des mélanges différents : 8 volumes d'émulsion + 2 volumes de solution physiologique stérile de NaCl, 4 volumes d'émulsion + 6 volumes de solution salée, 2 volumes d'émulsion + 8 volumes de solution salée, 1 volume d'émulsion + 9 volumes de solution salée, 1 part d'émulsion + 19 parts de solution salée. De ces solutions étendues on a toujours employé 1 cent. cube dans l'essai. La technique des tentatives de fixation de l'alexine a, du reste, été celle dont on se sert généralement à l'Institut sérothérapique.

Le système hémolytique consiste en globules de sang de mouton, en substances sensibilisatrices de sang de mouton préparées sur lapin et, comme alexine, en sérum frais de cobaye, toujours dans un mélange de 1 partie d'alexine + 9 parties d'eau. Les doses employées sont, pour le sang de mouton, 0,5 cent. cube d'une solution à 5 p. 100 de globules dans une solution physiologique stérile de NaCl, à laquelle on ajoute 0,5 cent. cube d'une solution de substance sensibilisatrice, contenant 2 à 3 unités. Comme la force de l'alexine varie dans les sérums des différents cobayes il faut déterminer par des essais préliminaires le minimum d'alexine nécessaire pour obtenir l'hémolyse totale. L'addition d'antigène au système hémolytique affaiblit l'hémolyse, de sorte qu'une quantité plus grande d'alexine est nécessaire pour obtenir l'hémolyse totale. Cette quantité d'alexine se détermine aussi par un essai préliminaire avec le système hémolytique antigène. En général, avec notre antigène la différence entre les deux valeurs de la quantité d'alexine est petite. Ainsi, si dans le système hémolytique seul on emploie 0,2 cent. cube de solution d'alexine, il faut en employer 0,25 cent. cube en

ajoutant de l'antigène. La dernière valeur de l'alexine qu'on a trouvée s'utilise dans l'essai principal, qui se fait toujours avec du sérum de malade inactivé, à des doses de 0,1, 0,05 et 0,02 cent. cube. Ayant fait, au moyen d'une pipette, le mélange des différentes quantités de sérum de malade, d'antigène, et d'alexine, on le laisse $\frac{3}{4}$ d'heure à la température ordinaire du laboratoire, puis on le porte au bain-marie, où il est laissé $\frac{3}{4}$ d'heure à 37°. Pendant ce temps, l'antigène, réuni aux anticorps, s'il y en a dans le sérum, exercera son pouvoir de fixer l'alexine, de sorte que, dans les cas positifs, après qu'on aura ajouté du sang de mouton + la substance sensibilisatrice, l'hémolyse sera faible ou nulle après deux heures de repos au bain-marie à 37°.

Comme, le plus souvent, il s'agit, dans les cas de la coqueluche, de réactions assez faibles, qui pourront disparaître en ajoutant l'alexine en excès, nous considérons que les essais préliminaires que nous venons de décrire, et dans lesquels on trouve la valeur la plus basse de la quantité d'alexine nécessaire pour donner l'hémolyse totale, sont importants. Comme il arrive de temps en temps qu'un sérum de malade opère spontanément la fixation de l'alexine il faut faire un essai témoin pour chaque essai au sérum. On ajoute au système hémolytique la plus grande quantité de sérum seul employée + 0,5 cent. cube de solution physiologique stérile de NaCl, mais pas d'antigène. Dans ce tube témoin, l'hémolyse doit être totale ou presque totale pour qu'on puisse tenir compte de l'essai.

Le degré de l'hémolyse s'exprime par des chiffres tels que 100 indique l'hémolyse totale, 0 indique l'absence totale d'hémolyse (fixation de l'alexine), les chiffres intermédiaires indiquant le degré de l'hémolyse. On compte que l'hémolyse de 70 et au-dessus n'a pas donné de réaction.

En essayant les mélanges d'antigène indiqués plus haut on a vu qu'avec le mélange 1+19, on n'a jamais de résultat positif. De 7 sérums qui étaient positifs avec le mélange 2+8 et au-dessus, le résultat avec 1+9 était positif dans 1 cas, faiblement positif (60) dans 1 cas et négatif dans tous les autres cas.

Pour commencer, on a employé la même souche dans tous les cas. Plus tard, nous avons employé différentes cultures entièrement fraîches et dont l'action était quelquefois un peu plus forte. Mais dans tous les cas il faut se servir d'une émulsion dense.

Nous avons plus tard continué les tentatives de fixation de l'alexine et, en tout, nous avons fait 153 tentatives de fixation de l'alexine chez 112 malades.

Le résultat en est résumé dans les tableaux III et IV, le tableau III montrant le nombre de malades traités au premier essai, le tableau IV le nombre total de recherches faites, quelques-uns des malades ayant été examinés à plusieurs reprises.

Chez 6 malades seulement sur 112, des recherches répétées de 2 ou 3 jusqu'à 7 fois, n'ont pas fait découvrir dans le sérum d'anticorps fixant l'alexine; cependant l'un des 6 n'a été examiné qu'une fois, 3 mois et demi après le commencement de la

maladie, donc à un moment où l'expérience montre que la réaction peut avoir disparu.

TABLEAU III.

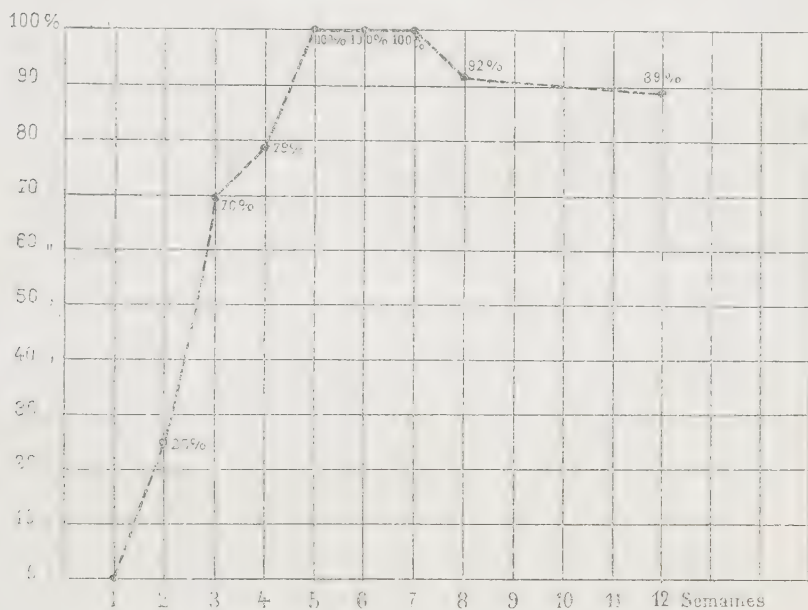
AGE de LA MALADIE	NOMBRE de MALADES	FIXATION de L'ALEXINE	PAS DE FIXATION de L'ALEXINE
1 ^{re} semaine	3	0	3
2 ^e semaine.	8	2	6
3 ^e semaine.	16	9	7
4 ^e semaine.	29	20	9
5 ^e semaine.	14	14	0
6 ^e semaine.	13	12	0
7 ^e semaine.	7	7	0
2 ^e mois	11	11	0
3 ^e mois	7	6	1
4 ^e mois	1	1	0
5 ^e mois	3	3	0
	112	86	26

TABLEAU IV.

AGE de LA MALADIE	NOMBRE de RECHERCHES	FIXATION de L'ALEXINE positive	PAS DE FIXATION de L'ALEXINE	LA RÉACTION toujours NÉGATIVE	PAS DE FIXATION DE L'ALEXINE (les six cas qui ne donnaient jamais de réaction non compris).
1 ^{re} semaine.	3	0	3	3
2 ^e semaine.	9	2	7	1	6 (dont 1 réaction répétée).
3 ^e semaine.	23	16	7	7
4 ^e semaine.	34	23	11	5	6 (dont 1 réaction répétée).
5 ^e semaine.	22	18	4	4	0
6 ^e semaine.	20	14	6	6	0
7 ^e semaine.	9	7	2	2	0
2 ^e mois . .	17	12	5	4	1 (réaction répétée).
3 ^e mois . .	10	8	2	1	1 (Id.).
4 ^e mois . .	2	1	1	1 (Id.).
5 ^e mois . .	4	3	1	1 (Id.).
	152	104	49	23	26 (dont 6 réactions répétées).

La courbe II indique la marche de la réaction, c'est-à-dire le pourcentage de réaction positive pour toutes les recherches

de chaque semaine. Les 6 malades qui ne donnaient aucune réaction ont, naturellement, été laissés de côté. On voit qu'en général la réaction n'apparaît qu'à la 3^e semaine. Elle peut, cependant, se manifester déjà à la 2^e; quelquefois elle est un peu retardée. On la trouve constamment, de la 5^e semaine environ jusqu'à quelques mois après le commencement de la maladie. Puis elle disparaît peu à peu. Suivant les recherches



COURBE II.

d'autres investigateurs (Weil, Giese et d'autres), elle pourra se rencontrer plusieurs années après l'apparition de la maladie. Sur ce point, cependant, nous n'avons pas d'expériences indépendantes.

Quant à l'intensité de la réaction, qui est déterminée, nous l'avons dit plus haut, par des chiffres d'hémolyse, elle prédomine aussi de la 5^e à la 8^e semaine, et la courbe de ses variations suivrait à peu près la courbe précédente.

Dans les cas cités, la réaction a été faite avec du sérum inactivé. En 35 cas elle a été faite en même temps avec du sérum non inactivé. On a vu alors, ainsi que Weil l'a fait

remarquer, qu'elle se manifeste quelquefois au commencement de la maladie quand on l'entreprend avec du sérum non inactivé; de même, elle est plus forte avec du sérum non inactivé à un moment où elle est encore faible avec du sérum inactivé. Dans 2 des cas qui ne donnaient pas de réaction du tout avec du sérum inactivé, nous avons eu l'occasion d'essayer en même temps avec du sérum non inactivé, mais celui-ci ne donnait pas de réaction non plus. Il faut donc entreprendre l'essai avec le sérum non activé quand, dans un but diagnostique, on fait des tentatives de fixation de l'alexine au moment où la maladie est très peu avancée.

Les conclusions que nous avons tirées des tentatives de fixation de l'alexine lors de nos premières recherches en 1915 se sont confirmées. Les voici : *La fixation de l'alexine de sérum d'homme avec le microbe Bordet-Gengou comme antigène rend extrêmement probable que l'individu a ou vient d'avoir la coqueluche. L'absence de réaction, au contraire, n'est pas une indication sûre que l'individu n'ait pas la coqueluche ou ne l'ait pas eue récemment, la fixation de l'alexine n'apparaissant, en général, qu'à la 3^e ou à la 4^e semaine, quelquefois plus tard. Elle peut disparaître au bout de quelques mois, dans quelques cas encore plus vite. Dans des cas rares, elle peut manquer complètement, lorsque des anticorps fixant l'alexine manquent au sérum. D'après l'ensemble de nos recherches, qui confirment la découverte du génial savant belge Bordet, nous pensons qu'il est hors de doute que le microbe Bordet-Gengou est le microbe de la coqueluche.*

Dans le but de juger de l'importance pratique de ces recherches, on a fondé à l'Institut sérothérapique de l'État une station de diagnostic de la coqueluche où, d'une part, on a fait l'examen d'expectorations reçues du dehors, d'autre part, des tentatives de fixation de l'alexine d'échantillons de sang reçus du dehors.

Jusqu'au milieu du mois de février 1916 on a reçu 110 échantillons d'expectoration et 11 échantillons de sang.

Pour ces derniers, il s'agissait dans un cas du placement

d'une garde-malade dans un hôpital d'enfants. Elle ignorait si elle avait eu la coqueluche, et pour l'apprendre on a fait l'examen, qui était négatif. 2 autres recherches furent négatives. Il s'agissait de 2 malades qui en étaient au début de la coqueluche. Les 8 autres cas furent positifs et ont été entrepris, en partie, dans un but diagnostique.

Quant aux échantillons d'expectoration, 17 étaient reçus de médecins exerçants, les 93 autres de différentes sections des enfants d'hôpitaux.

Dans la moitié des cas, le résultat concordait avec la marche de la maladie. Ainsi le microbe de la coqueluche n'a été trouvé dans aucun des cas qui, d'après ce qui a apparu plus tard, n'étaient pas de la coqueluche. On n'a pas trouvé non plus de microbes dans le cas de la coqueluche dans une période avancée, c'est-à-dire après la 4^e semaine. Dans un certain nombre de cas on a trouvé les microbes, et l'examen y était souvent d'une grande importance diagnostique. Nous nous contenterons d'en citer ici 3.

Dans l'un, il s'agit de l'expectoration d'un malade du Jutland, un instituteur. De l'expectoration reçue on a retiré le microbe de la coqueluche en culture pure, et quelques semaines plus tard un échantillon de sang envoyé a fait voir que le malade avait aussi une forte fixation de l'alexine. Dans le second cas, il s'agit de l'expectoration d'un malade de l'hôpital d'enfants, chez lequel les microbes ont été trouvés, à la grande surprise de l'hôpital où on ne comprenait pas, en ce moment-là, d'où l'enfant qui était là depuis longtemps avait subi la contagion. On se rappela alors qu'un des médecins de l'hôpital toussait assez fortement et — c'est là le 3^e cas — en examinant l'expectoration de ce médecin, on a trouvé le microbe de la coqueluche. Malheureusement, le médecin avait déjà donné la maladie à plusieurs enfants de l'hôpital.

Dans la moitié des cas, à peu près, on n'a pas trouvé de microbes de la coqueluche dans les échantillons d'expectoration reçus, quoique l'expectoration provint d'enfants à la période catarrhale ou au commencement de la période convulsive.

La raison principale en était, à ce qu'on a vu, que l'expectoration n'était pas caractéristique, consistant souvent en restes d'aliments ou en mucosité de la bouche ou de l'arrière-

bouche. De plus, on a eu, pendant un assez long temps, des difficultés à préparer le milieu.

Dans 2 cas où il avait fallu répondre : pas de microbes de coqueluche, l'un de nous avait l'occasion, le lendemain, de recueillir l'expectoration, et nous avons eu alors une croissance luxuriante de microbes de la coqueluche, mais cela n'empêche pas que nous apprécions parfaitement les difficultés du médecin exerçant qui, naturellement, ne peut pas attendre jusqu'à ce qu'une expectoration caractéristique se présente. Ajoutez qu'il est, le plus souvent, pour ainsi dire impossible d'avoir l'expectoration à la période catarrhale, où le diagnostic est de la plus grande importance. C'est dans ce cas-là que la méthode de tousser contre le milieu doit montrer sa valeur, et les résultats obtenus jusqu'ici promettent assez pour qu'il soit de notre devoir de recommander cette méthode qui, nous l'avons dit déjà, pourra sans doute avoir de l'importance dans le diagnostic de la coqueluche au commencement de la maladie. Aujourd'hui, l'Institut sérothérapique de l'État envoie des milieux dans des boîtes de fer-blanc, transportables par la poste, à l'usage des sections des enfants des hôpitaux, des crèches, des salles d'asile, des asiles et aussi des médecins pratiquants.

.
.

Nous mentionnerons, pour finir, que nous avons préparé une vaccine, émulsion de microbes tués, que des médecins pratiquants, ainsi que nous-mêmes, avons essayée dans un petit nombre de cas, environ 60, partie comme moyen préventif, partie comme moyen thérapeutique. Le matériel est encore trop petit pour que nous puissions tirer des conclusions touchant la valeur de cette vaccine; mais comme, dans un certain nombre de cas, les résultats nous paraissent, à nous et à d'autres, favorables, nous allons continuer l'emploi de la vaccine en espérant pouvoir plus tard publier les résultats de ces expériences.

ORIGINE ET DISTRIBUTION DE L'URÉE DANS LA NATURE

APPLICATION DE NOUVELLES MÉTHODES D'ANALYSE DE L'URÉE BASÉES SUR L'EMPLOI DU XANTHYDROL

par R. FOSSE.

INTRODUCTION

La formation de l'urée dans la nature représente une fonction infiniment plus importante et répandue qu'on ne l'avait cru jusqu'ici.

Nous désignerons sous le nom d'*Uréification* ce phénomène qui se manifeste à tous les degrés d'organisation de la matière vivante.

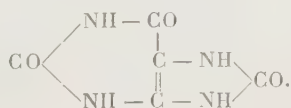
1. Chez l'homme, on sait, depuis longtemps, que la majeure partie de l'azote qui sort de l'organisme se trouve à l'état d'urée.

C'est, en effet, sous cette forme que se présentent les huit dixièmes au moins de l'azote total de l'urine (80 à 85 p. 100).

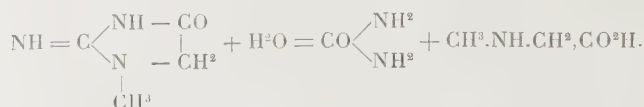
L'importance de la cause inconnue qui produit un tel résultat s'accroît encore, si l'on examine la nature chimique des autres produits d'excrétion azotés.

Ce sont pour la plupart des dérivés, plus ou moins proches, de l'urée ou de son imide, la guanidine :

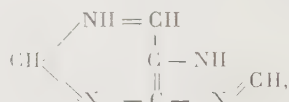
L'acide urique, contenant deux fois dans sa molécule le groupement de la carbamide



La *créatinine*, hydrolysable en urée et sarcosine



Les *bases puriques*, dérivées de la *purine*



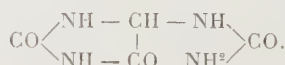
produit de réduction de l'acide urique.

A côté de ces matériaux constants de l'urine, qui représentent 5 à 6 p. 100 de l'azote total, on a encore signalé :

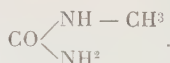
L'*acide oxalurique*



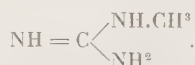
L'*allantoïne*



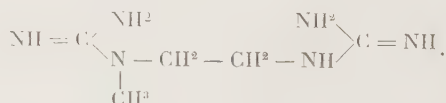
La *méthylurée*



La *méthylguanidine*



La *vitiatine*, qui aurait pour formule



2. Prépondérante chez l'homme et les mammifères, l'*uréification* se manifeste, avec plus ou moins d'importance, chez les autres *vertébrés* et les *invertébrés* eux-mêmes.

Nous avons mis hors de doute la présence de la carbamide chez les *Mollusques*, les *Insectes*, les *Crustacés*, les *Vers*, les *Echinodermes* et les *Cœlentérés*.

3. Mais les animaux, *supérieurs* ou d'*organisation rudimentaire*, ne sont pas les seuls êtres vivants capables de former l'urée.

L'uréification étend son action au delà du dernier échelon de la série animale : elle se produit avec la plus grande netteté chez les *végétaux*, aussi bien chez les individus d'*organisation élevée* que chez les *moisissures*.

Nous établirons, en effet, que l'urée, qui, malgré sa présence chez quelques champignons (Bamberger, Goris), n'avait été considérée, jusqu'au moment de nos recherches, que comme un produit d'origine et d'excrétion animales, se forme, à l'abri de toute contingence, dans des milieux artificiels de composition connue, pendant la *germination de la graine* sur l'eau pure ou des spores de l'*Aspergillus* et du *Penicillium* sur liquide Raulin.

Elle fait son apparition spontanée lorsqu'on expose simplement ce milieu nutritif, en vase ouvert, aux germes de l'atmosphère.

4. Nos expériences révèlent enfin que l'uréification a lieu encore dans le sol lui-même.

5. Quelle est l'origine de cette substance, présente à tous les degrés d'organisation de la matière vivante?

Le problème n'a été jusqu'ici envisagé que dans les limites de la série animale : pour les mammifères et pour l'homme principalement.

Les nombreux auteurs, qui, depuis plus de soixante-dix ans, en poursuivent la solution aboutissent aux hypothèses suivantes :

a) *L'urée, que nous rejetons, est produite directement par l'oxydation de l'albumine.*

Les résultats contradictoires, obtenus à la suite des nombreuses tentatives faites pour démontrer la présence de l'urée dans les produits résultant de l'oxydation artificielle de l'albumine, ont conduit à abandonner cette conception.

b) *L'urée doit sa formation, in vivo, à l'oxydation des acides amines.*

Cette conclusion s'appuie sur un fait : la production artificielle de l'urée par oxydation des acides aminés, et sur une hypothèse : l'existence des acides aminés à l'état libre dans le sang et les tissus.

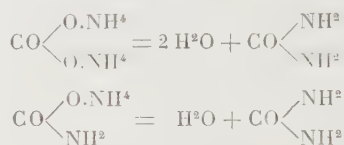
c) *Une faible partie de l'urée de l'urine (10 p. 100 au*

maximum) dérive par hydrolyse diastasique d'un acide aminé, constituant des protéiques, l'arginine.

Cette hypothèse repose sur la découverte dans le foie d'un ferment, l'arginase, hydrolysant l'arginine.

d) Enfin la théorie universellement admise aujourd'hui prétend que : *L'urée proviendrait, par réaction anaérobie, de l'acide carbonique et de l'ammoniaque, produits ultimes des combustions.*

Une diastase déshydraterait leur combinaison, le carbonate ou le carbamate d'ammoniaque, caustiques et toxiques, afin de les changer l'un ou l'autre en corps neutre et inoffensif



C'est là la doctrine régnante, acceptée partout, bien qu'on n'ait pu réussir à démontrer l'existence d'un ferment capable de réaliser pareille synthèse, par enlèvement d'eau au carbonate ou au carbamate d'ammoniaque.

L'uréogénèse serait ainsi une fonction anaérobie, de nature très particulière, créée dans un but de défense antitoxique et exécutée par de mystérieux agents dont la vie animale aurait le privilège.

6. Nous établissons par des expériences, simples et faciles à reproduire, que :

Les trois classes de matériaux carbonés des êtres vivants, protéiques, hydrates de carbone et graisses sont capables de former artificiellement l'urée par oxydation et, par conséquent, susceptibles de participer au grand et mystérieux phénomène de l'uréification.

L'urée est, en effet, un produit constant de l'oxydation permanganique des *albuminoïdes*.

Oxyde-t-on un mélange de ces deux corps, le *glucose* et l'*ammoniaque*, qui apparaissent et disparaissent incessamment dans chaque cellule de l'organisme animal : l'urée prend naissance, mais avec plus de facilité et d'abondance que dans le cas de l'albumine.

Nous réalisons encore la même synthèse en brûlant, par voie humide, en présence d'ammoniaque, la *glycérine*, constituant des *corps gras*.

Il est aisé de démontrer que *de très petites quantités d'ammoniaque*, 1 centigramme (0 gr. 01), par exemple, ne peuvent échapper à l'obligation de produire de l'urée pendant la combustion du glucose.

L'uréfication artificielle de l'ammoniaque en présence du glucose est encore possible, si l'on prend l'ammoniaque à de fortes dilutions (0 gr. 10 à 0 gr. 01 par litre) comparables et même supérieures à celles où il se présente dans l'organisme.

Mais l'ammoniaque n'est pas le seul principe naturel azoté qui, en présence du glucose, produise d'importantes quantités d'urée.

L'aptitude du glucose à l'uréfication n'est pas moins remarquable, lorsqu'on provoque son oxydation en présence de la substance mère de l'ammoniaque dans l'organisme, l'albumine elle-même.

Tandis que le rendement de l'uréfication artificielle des albuminoïdes par oxydation est assez faible, il s'élève brusquement, au contraire, à des valeurs considérables, si, dans des conditions expérimentales convenables, on oxyde simultanément l'albumine et le glucose.

Nous sommes ainsi dans la nécessité d'admettre qu'une importante relation, demeurée jusqu'ici complètement ignorée, existe entre la glycogénèse et l'uréogénèse.

De l'ensemble de ces synthèses nous concluons, en outre, que le mécanisme de la formation de l'urée chez l'animal, ne consiste pas dans la *déshydratation* de l'ammoniaque et d'un résidu carboné minéral, *incombustible* et *inoxydable*, l'acide carbonique.

La réaction qui lui donne naissance n'est pas *endothermique* et *anaérobie*, mais au contraire *exothermique* et *aérobie*.

Elle est due à la combustion des principes naturels et des produits de simplification, *combustibles*, qui en dérivent.

7. La carbamide se produit constamment encore dans l'oxydation ammoniacale des *hydrates de carbone*, d'origine végétale : lévulose, saccharose, dextrine, inuline, amidon, cellulose, ainsi que de leur générateur, l'aldéhyde formique.

Ces synthèses nous expliquent, de la même manière que chez les animaux, la présence de l'urée chez les végétaux. Ce sont elles, d'ailleurs, qui nous ont conduit à chercher et à découvrir la formation de ce corps par cette catégorie d'êtres vivants.

L'urée, incluse dans la plantule et même dans l'embryon des végétaux supérieurs, résulte de l'oxydation des principes carbonés et azolés, en réserve dans la graine.

La cellule des moisissures réalise la même synthèse, lorsqu'elle édifie ses tissus en brûlant du sucre et de l'ammoniaque.

8. L'uréification établit donc un nouveau lien entre animaux et végétaux, puisque l'urée existe chez les uns et les autres et qu'elle provient, selon toute vraisemblance, dans les deux cas, d'une origine commune : l'oxydation de principes de même nature.

Cependant, excrétée par l'animal, elle est, au contraire, absorbée par le végétal. D'après d'anciennes expériences, les plantes se développent en effet normalement lorsqu'elles reçoivent de l'azote exclusivement sous forme d'urée.

Faut-il en conclure que l'urée est directement assimilable par la cellule végétale et que, dès lors, sa molécule intacte vient faire partie intégrante de la molécule protéique ?

Non.

Le rôle et l'utilité de l'uréase dans les plantes, insoupçonnés jusqu'ici, parce que l'on ignorait la formation de l'urée par leurs cellules, consiste, précisément à détruire ce corps afin de rendre son azote assimilable en le transformant en ammoniaque.

C'est pourquoi, comme nous l'avons démontré, le même végétal peut contenir à la fois de l'urée et de l'uréase, et être ainsi le siège des deux phénomènes inverses de formation et de destruction de ce corps.

9. Ces notions ont été acquises en utilisant, depuis de nombreuses années, deux nouvelles méthodes d'analyse, qualitative et quantitative de l'urée, singulièrement sûres et sensibles, qui permettent aisément de reproduire, contrôler et élargir les résultats que nous venons de résumer.

Quoique l'étude de nos procédés analytiques n'ait pu être

terminée entièrement et que nous nous réservions de les perfectionner encore, nous exposerons, dans une *première partie* de ce travail, le principe sur lequel ils reposent; les curieuses propriétés et la préparation du réactif qu'ils nécessitent; les modes opératoires, enfin, applicables à l'identification et au dosage de très petites quantités d'urée, dans un milieu quelconque, artificiel ou biologique.

La *deuxième partie* sera consacrée à la formation de l'urée aux dépens de l'albumine.

Dans la *troisième*, nous établirons la synthèse de ce corps aux dépens de l'ammoniaque oxydée en présence des hydrates de carbone, des graisses ou de l'aldéhyde formique.

On démontrera enfin, comme conséquences de ces synthèses, la présence de l'urée chez les invertébrés dans une *quatrième partie* et chez les végétaux dans une *cinquième*.

PREMIÈRE PARTIE

ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE GRAVIMÉTRIQUE DE L'URÉE, AU MOYEN DU XANTHYDROL

CHAPITRE PREMIER

ISOLEMENT DE L'URÉE PAR LES MÉTHODES CONNUES JUSQU'ICI ET PAR LE XANTHYDROL

1. MÉTHODES USITÉES JUSQU'ICI. — Pour qu'une substance puisse bénéficier des procédés d'identification les plus sûrs (analyse élémentaire, vérification des constantes physiques), il est indispensable de l'isoler à l'état pur.

Quand il s'agit de l'urée, la réalisation de cette condition devient singulièrement délicate et pénible.

a) *Méthode de Schrøder*. — Cette méthode, la plus anciennement connue, basée sur la formation et la décomposition de la combinaison uréo-mercure de Liebig, comporte les manipulations suivantes :

- 1^o Précipitation par l'alcool d'une partie des substances en solution;
- 2^o Évaporation du filtrat hydro-alcoolique;
- 3^o Traitement du résidu dissous dans l'eau par le nitrate mercurique et la baryte;

- 4° Décomposition du précipité par l'hydrogène sulfuré ;
- 5° Élimination du sulfure par filtration et de H²S par un courant d'air ;
- 6° Neutralisation par la baryte de l'acide azotique provenant du nitrate mercurique ;
- 7° Précipitation par le gaz carbonique de la baryte en excès ;
- 8° Filtration, évaporation à sec dans le vide au-dessous de 70° ;
- 9° Épuisement du résidu par l'alcool absolu ;
- 10° Addition à la liqueur alcoolique de trois fois son volume d'éther acétique ;
- 11° Filtration, évaporation ;
- 12° Application de ce traitement par l'alcool et l'éther acétique à l'extrait sec, deux ou trois fois ;
- 13° Si des cristaux d'urée n'apparaissent pas, on tente, par addition au résidu de quelques gouttes d'acide azotique, d'isoler *son nitrate*, qui offre d'ailleurs une trompeuse ressemblance avec l'azotate de potassium.

On est obligé de reconnaître, ou bien que cette méthode manque de sensibilité, ou que son application exige une grande habileté.

Il suffit, pour s'en convaincre, de se reporter aux conclusions contradictoires qui ont été émises et aux vives discussions qui se sont élevées à la suite des tentatives faites par divers chercheurs pour isoler l'urée ou simplement la caractériser dans un même cas déterminé, *l'oxydation de l'albumine*.

Plusieurs d'entre eux n'ont pu réussir à saisir la moindre trace de ce corps dans une solution, qui en contenait, cependant, *plusieurs décigrammes*, ainsi que nous le montrerons dans ce travail.

De là est née l'opinion, admise dans la littérature, jusqu'au jour où nous avons entrepris ces recherches, que les chimistes *n'avaient pas réussi à produire de l'urée par l'action de réactifs oxydants sur l'albumine*.

Les autres procédés proposés pour isoler la carbamide ne pas moins laborieux.

b) *Extraction de l'urée de l'urine par la méthode de Salkowski* (1). — 200 à 300 cent. cubes d'urine de chien ou un volume double d'urine humaine sont additionnés d'un mélange d'eau de baryte (2 vol.) et de solution saturée de nitrate de baryum (1 vol.), jusqu'à ce qu'il ne se produise plus de précipité. Le filtratum, réuni aux eaux de lavage du précipité, est évaporé d'abord, à feu nu, puis au bain-marie, dès que le volume atteint 200 cent. cubes.

Après addition d'alcool (430 cent. cubes) au produit sirupeux, filtration et

(1) SALKOWSKI, *Praktikum d. phys. u. pathol. Chemie*, 1900.

concentration au bain-marie, le plus loin possible, on ajoute au résidu refroidi deux fois son volume d'acide nitrique.

Le nitrate d'urée est recueilli le lendemain, lavé avec un peu d'acide nitrique froid, puis séché par contact avec une matière poreuse (papier, porcelaine).

Après avoir complètement neutralisé la solution aqueuse de ce sel par addition à chaud de carbonate de calcium, on décolore par le noir animal, filtre et évapore à sec.

L'urée est séparée du nitrate calcique par dissolution dans l'alcool, d'où elle cristallise après concentration.

Une deuxième cristallisation est nécessaire pour obtenir le corps pur.

c) *Extraction de l'urée de l'urine humaine par Lippichs* (1). — L'urine est traitée, d'abord, par son volume de liqueur de Mörner-Sjöquist (solution saturée de chlorure de baryum contenant en outre 5 p. 100 d'hydrate de baryte) et ensuite par 20 volumes d'un mélange formé d'une partie d'éther et de deux parties d'alcool.

Après 48 heures de contact, durant lesquelles on agite fréquemment, le liquide décanté est saturé de gaz carbonique, filtré et évaporé à 40°.

Le résidu, séché dans le vide sulfurique, pulvérisé, séché à nouveau, est épuisé par l'alcool absolu. On filtre et évapore la solution, à 40° dans le vide.

L'extrait, séché dans le vide sulfurique, pulvérisé et séché à nouveau, est épuisé par de l'éther et de l'alcool absolus, pris à volumes égaux.

Le nouvel extrait, sec et pulvérisé, est épuisé par un dissolvant formé d'alcools éthylique et amylique.

L'alcool éthylique ayant été chassé, la solution amylique reçoit de l'acide oxalique, anhydre, sublimé, en assez grand excès, puis de l'éther (2 à 3 vol.), séché sur sodium et saturé d'acide oxalique anhydre.

Après 24 heures, on traite par le carbonate de chaux la solution aqueuse du dépôt formé d'oxalate d'urée et d'acide oxalique, préalablement lavé à l'éther anhydre, saturé d'acide oxalique.

Dès que la réaction est devenue neutre, on filtre, évapore à l'air, filtre à nouveau pour éliminer une petite quantité d'oxalate calcique, qui se dépose au début de la concentration, puis finalement on évapore à sec.

Le produit est de l'urée pure avec son point de fusion exact.

2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE D'ANALYSE QUALITATIVE DE L'URÉE, BASÉE SUR L'EMPLOI DU XANTHYDROL. — Au lieu de chercher à retirer péniblement une fraction, plus ou moins réduite, de la substance incluse dans un mélange, à la suite d'une longue série de manipulations, nous la précipitons *directement et presque intégralement*, à une très faible erreur près, des solutions où elle peut se trouver mêlée, sans inconvénients, à un certain nombre de substances minérales ou organiques. Nous obtenons l'urée sous la forme d'une *combinaison définie, cris-*

(1) LIPPICHS, *Zeitschrift für phys. Chemie*, 1906, t. XL, p. 60.

tallisée, caractéristique, de poids moléculaire élevé, découverte au cours de précédents travaux sur les *sels de pyryle* et les alcools *aromatiques*.

La méthode est aisément applicable aux *liquides biologiques*, non seulement à *l'urine de l'homme et des animaux*, mais aussi, ainsi que nous avons pu l'établir, avec MM. A. Robyn et F. François, *au sang, au lait, aux purées d'organes*, préalablement dépouillés des protéiques à froid, sans précipitation alcoolique ni concentration.

Dans n'importe quel cas, l'obtention de cette combinaison spécifique de l'urée, *pure à l'analyse*, ne nécessite pas 3 heures d'un travail très simple, à la portée du moins expérimenté des chimistes.

Une quantité d'urée de *cinq centigrammes* (0 gr. 05) *au maximum*, contenue dans un important volume de solution ou dans un milieu biologique quelconque, suffit largement pour permettre, après recristallisation de sa combinaison caractéristique brute, de baser l'identification de ce corps sur le plus sûr des criteriums, *l'analyse organique élémentaire*, accompagnée de la vérification des constantes physiques.

Mais 5.000 *fois moins de matière, un centième de milligramme* (0 gr. 00001) ne saurait passer inaperçu en utilisant des procédés microchimiques.

Tandis que 200 à 300 cent. cubes d'urine de chien ou un volume double d'urine humaine sont nécessaires à Salkowski pour isoler l'urée à l'état de pureté, 2 à 5 cent. cubes d'urine humaine nous permettent d'obtenir l'urée dixanthylée, pure à l'analyse et en quantité suffisante, même après recristallisation, pour pouvoir effectuer cette détermination quantitative.

Lorsque Dumas voulut démontrer par l'analyse élémentaire, la présence de l'urée dans le sang, il fit porter ses expériences d'extraction sur le sang d'animaux (chien, chat, lapin) ayant subi depuis plusieurs jours l'ablation des reins, saignés au moment où leur état lui faisait « présumer qu'ils n'avaient plus que peu de temps à vivre ».

Si l'on voulait reproduire cette expérience célèbre, il suffirait de prendre 150 à 200 cent. cubes de sérum normal de porc, bœuf ou cheval. L'opération complète de préparation de notre combinaison caractéristique, y compris sa cristallisation et le

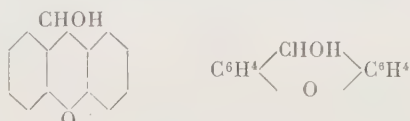
dosage de l'azote par titrage alcalimétrique, peut être aisément accomplie en 4-5 heures.

C'est un sujet de manipulation facile pour un élève.

Dans une goutte de solution, récemment préparée, de *xanthydrol* dans l'acide acétique, contenant quelques centièmes d'eau, introduit-on un fragment de cristal d'urée, aussi petit que possible, on voit bientôt un précipité volumineux apparaître.

A 1 cent. cube de solution titrée, contenant un centigramme d'urée par litre (0 gr. 01), correspondant, par conséquent, à un centième de milligramme (0 gr. 00001) d'urée, on ajoute 1 cent. cube d'acide acétique cristallisable et 0 cent. cube 08 de solution de xanthydrol à 1/10 dans l'alcool méthylique, à l'aide d'une pipette graduée à 1/100 de centimètre cube. En moins de 10 minutes, le mélange, primitivement limpide, se trouble et abandonne de légers flocons, qui, à un très fort grossissement du microscope, apparaissent formés de petites aiguilles groupées.

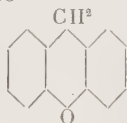
Deux molécules de xanthydrol, alcool de la série hétéro-cyclique



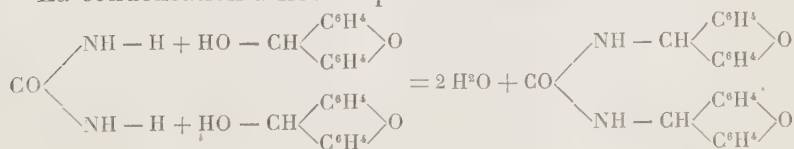
se sont unies à une seule molécule d'urée pour donner, avec élimination de deux molécules d'eau, un dérivé de l'urée, dont deux atomes d'hydrogène sont remplacés symétriquement par le radical xanthyle



correspondant au xanthane



La condensation a lieu d'après le schéma suivant :



Avant d'indiquer les conditions expérimentales de cette réaction et la technique que nous suivons, il est indispensable de faire connaître, tout d'abord, les curieuses propriétés et l'incomparable activité chimique du xanthydrol.

CHAPITRE II

SUR LES PROPRIÉTÉS DU XANTHYDROL ET DES SELS DE PYRYLE

De cet alcool, obtenu par R. Meyer et Saul (1) en 1893, on ne connaissait, avant nos travaux, que son altérabilité; on ignorait tout de ses remarquables propriétés. Consulter Beilstein.

A la suite de la découverte du *dinaphthopyranol*



des *sels de pyryle* et de leurs caractères extrêmement curieux, inconnus jusqu'alors pour les corps sans azote, nous avons été conduit à étudier des pyranols plus simples, le diphénopyranol ou xanthydrol, par exemple, afin de généraliser, s'il y avait lieu, les notions acquises par nos premières recherches.

En réalité, ce *monoalcool*, dérivé du pyrane,



est apparu dans la littérature, près de 20 ans avant nos propres recherches, avec une formule brute et des propriétés singulièrement erronées ou méconnues (2).

Par suite des difficultés matérielles considérables que pré-

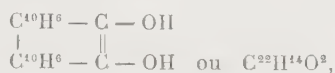
(1) R. MEYER et SAUL, *Berichte*, 1893, t. XXVI, p. 1276.

(2) G. ROUSSEAU, Sur un nouveau glycol aromatique. *Annales de chimie et de physique*, 1883, 5^e s., t. XXXVII, p. 145-198.

R. FOSSE, Sur le prétendu binaphthylène-glycol. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1902, t. CXXXIV, p. 662. — R. FOSSE, Sur la nature et les propriétés des corps formés dans l'action du chloroforme sur le naphitol β . *Bull. Soc. Chim.*, 1902, t. XXVII, p. 496-539.

sentait son étude et de ses propriétés tout à fait inattendues, sans exemple en chimie organique, il avait été considéré comme : possédant *deux fonctions alcool tertiaire*; pourvu d'une *chaîne éthylénique* et dérivant, enfin, du *binaphtyle*.

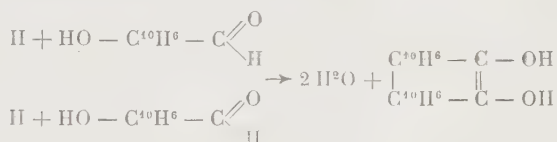
Ce prétendu binaphtylène glycol



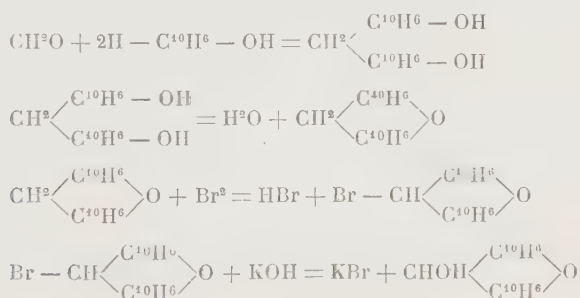
obtenu à côté de l'aldéhyde désiré



en appliquant au naphтол β la méthode de synthèse des aldéhydes-phénols, découverte par Reimer et Tiemann, aurait été engendré d'après le schéma suivant :



Après avoir d'abord préparé synthétiquement le dinaphtopyranol en partant du naphтол β et de l'aldéhyde formique

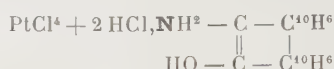


puis démontré son identité avec le prétendu glycol par tout un ensemble de réactions, nous avons entrepris l'étude de ce corps.

En dehors de sa coloration au contact des acides, toutes les autres propriétés qu'il manifeste — *basicité, caractère métallique, pouvoir oxydant, activité chimique* — étaient demeurées totalement inconnues. *La ressemblance du dinaphtopyranol avec les bases est si frappante qu'elle a pu faire attribuer à la*

combinaison non azotée de cet alcool avec l'acide chloroplatinique la formule d'un sel double d'amine.

Le corps qui avait été représenté dans la littérature par :



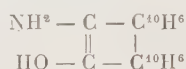
ne contient, en réalité, pas trace d'azote, ainsi que l'établissent la recherche de cet élément et l'analyse quantitative complète.

Le chloroplatinate de cette prétendue amine n'est, en effet, autre chose que le chloroplatinate de dinaphtopyryle



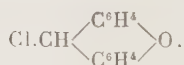
Une telle méprise demande quelques éclaircissements sur les circonstances dans lesquelles elle a pu se produire.

En traitant successivement par l'acide chlorhydrique et le chlorure de platine l'amine du prétendu glycol



l'auteur du travail cité obtint un chloroplatinate dans lequel il se contenta de doser un seul élément, le platine, comme on le fait couramment lorsqu'il s'agit de vérifier la formule attendue, évidente, normale d'un sel banal d'une base de composition bien connue. Il fut ainsi conduit par cet unique dosage à décrire comme sel d'amine un corps sans azote et à laisser échapper la découverte d'une curieuse fonction chimique.

En réalité, l'amine du prétendu glycol perd son azote au contact de l'acide chlorhydrique en donnant deux chlorures : du chlorure d'ammonium (NH_4Cl), d'une part, et le chlorure non azoté du prétendu glycol, d'autre part, répondant en réalité à la formule



Ce chlorure forme bien avec le chlorure de platine le chloroplatinate d'une base, mais d'une base oxygénée sans azote :



L'étude de la véritable nature des corps formés dans l'action

du chloroforme sur le naphthol β nous a conduit à la découverte de tout un ensemble de propriétés et de réactions propres aux alcools aromatiques. Ces notions sont venues troubler d'abord, élargir ensuite nos idées fondamentales classiques sur la fonction chimique.

Ce nouveau chapitre de la chimie organique, inauguré par nous dès 1901, a pris à l'heure actuelle un développement important.

Par leur *activité chimique*, leurs *propriétés oxydantes* et *basiques* ainsi que par le *caractère anorganique* et *métallique* de leur radical, le dérivé hydroxylé du dinaphtopyrane et celui du diphénopyrane paraissent cumuler chacune des fonctions qui suivent :

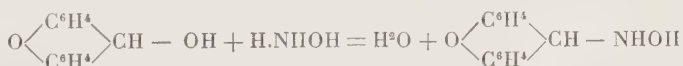
Aldéhyde et acétone,
Peroxyde,
Quinone,
Diazoïque,
Base minérale et métallique,
Alcaloïde.

A. — **Activité chimique du xanthydrol.**

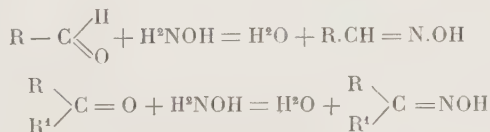
1. COMBINAISON DU XANTHYDROL AVEC LES RÉACTIFS AZOTÉS SPÉCIFIQUES DES ALDÉHYDES ET DES ACÉTONES. — Le xanthydrol se comporte comme un véritable aldéhyde ou acétone à l'égard de l'hydroxylamine, de la semi-carbazide, de la phénylhydrazine.

Place-t-on en solution alcoolique, à froid, le xanthydrol et l'hydroxylamine libre, leur combinaison se précipite rapidement.

La *xanthyhydroxylamine* résulte de l'élimination d'une molécule d'eau entre le xanthydrol et l'hydroxylamine.



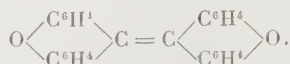
La réaction qui lui donne naissance ressemble, à la double liaison près, à celle qui produit les oximes



La *xanthylhydroxylamine* commence à fondre à partir de 140° avec production d'eau, d'azote et d'un nouveau type de dérivé pyranique, le *dixanthyle*, fondant à 204°,5



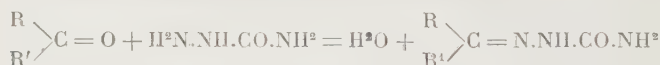
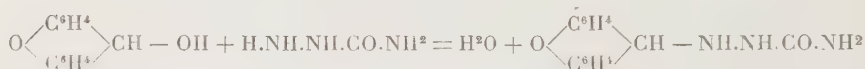
correspondant au dixanthylène connu



La semicarbazide s'unit au xanthidrol, dans les mêmes circonstances, pour former la *xanthylsemicarbazide*

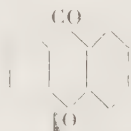


fondant avec décomposition vers 170°, d'après une réaction qui, abstraction faite de la double liaison, est calquée sur la formation des semi-carbazones



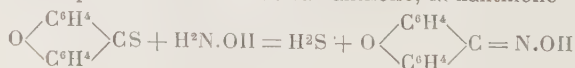
La *xanthylphénylhydrazine* se précipite d'une solution alcoolique acétique contenant ses deux composants.

L'activité du xanthidrol à l'égard des réactifs azotés des aldéhydes et des acétones est d'autant plus surprenante que la cétone correspondante, la xanthone



ne se combine ni à l'hydroxylamine, ni à la phénylhydrazine (1)

§ (1) Gröbe et Röder ont pu préparer l'oxime de la xanthone par une voie détournée aux dépens d'un dérivé de la xanthone, la xanthione



Berichte, 1890, t. XXXII, p. 1690.

(Spiegler) (1), ni à la semicarbazide, ainsi que nous l'avons constaté nous-même.

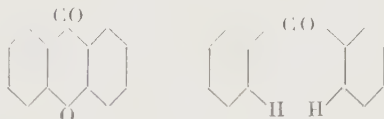
La fonction chimique classique se trouve en complet bouleversement dans le xanthidrol et la xanthone.

Le xanthidrol a hérité, semble-t-il, de l'activité chimique perdue par la fonction cétone de la xanthone.

Quelle est la cause de ces anomalies?

Tandis que la xanthone est sans action sur l'hydroxylamine, la phénylhydrazine et la semicarbazide, la benzophénone au contraire se conduit normalement comme une cétone à l'égard de ces réactifs.

Or la xanthone ne diffère de la benzophénone que par 1 atome d'oxygène, substitué à 2 atomes d'hydrogène, pris chacun en ortho dans les deux noyaux benzéniques de la diphenylcétone



Il en résulte que :

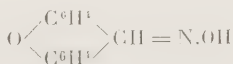
L'atome d'oxygène, fermant le noyau pyronique de la xanthone, paralyse l'action de l'oxygène cétonique sur les réactifs azotés des cétones.

Pour expliquer cette anomalie fonctionnelle, nous avons, en 1902 (2), émis l'hypothèse d'une attraction exercée entre les deux groupements O et CO.

L'un et l'autre des schémas traduisent cette manière de voir :



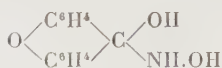
L'impossibilité de condenser directement la xanthone et l'hydroxylamine pour obtenir l'oxime



(1) SPIEGLER, *Berichte*, 1884, t. XVII, p. 808.

(2) R. FOSSE, Les bases oxygénées et la valence de l'oxygène. *Revue générale des sciences pures et appliquées*, octobre 1902, p. 941.

s'explique alors aisément par la soudure des deux atomes d'oxygène O et CO, qui s'oppose à la formation du produit d'addition, intermédiaire, instable



précurseur nécessaire de l'oxime.

Tandis que le xanthidrol se combine, à froid et en milieu alcoolique, à l'hydroxylamine, le benzhydrol, dans les mêmes circonstances, demeure inaltéré.

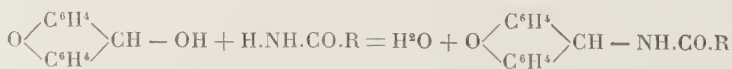
Si on compare la formule de ces deux alcools :



on est conduit à en déduire une conséquence inverse de la précédente. L'atome d'oxygène, fermant le noyau pyranolique du xanthidrol, communique à l'oxhydryle du groupement carbinol secondaire la faculté de réagir directement, en milieu alcoolique neutre, sur l'hydroxylamine et la semi-carbazide.

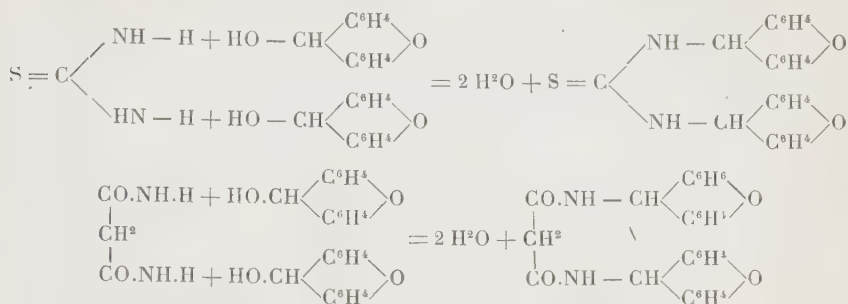
Nous ne ferons pas ici l'étude des nombreux [dérivés xanthylés que nous avons préparés ou fait préparer. Nous nous bornerons à énumérer les principaux avec leurs formules et points de fusion, afin que si l'un d'entre eux venait éventuellement à se précipiter d'une liqueur quelconque, soumise à l'analyse, toute confusion avec la dixanthylurée soit rendue impossible.

2. ACTION DU XANTHYDROL SUR LES AMIDES, DIAMIDES, ÉTHERS CARBAMIQUES, IMIDES ET AMINES. — L'oxhydryle du xanthidrol s'empare aisément de 1 atome d'hydrogène des monamides primaires pour former, avec élimination d'eau, une amide xanthylée

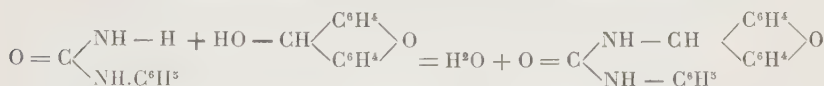


Avec les diamides non substituées, urée, thiourée, malona-

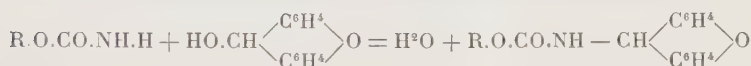
mide, succinamide, etc., cette réaction se produit deux fois :



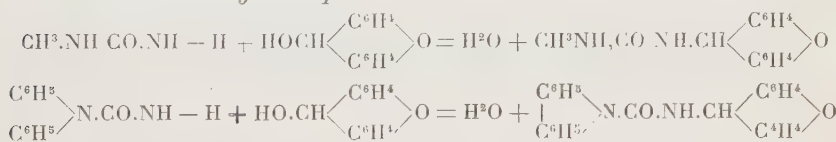
Si, dans les diamides, 1 atome d'hydrogène de l'azote est remplacé par un radical carboné, la condensation avec le xanthidrol ne se produit alors qu'entre molécules égales et la substitution xanthylée porte sur le groupement azoté primaire



Les *éthers carbamiques* se comportent comme les amides



Dans un intéressant travail, fait au laboratoire du professeur Franchimont, W. Adriani (1) a constaté que le xanthidrol se combine équimoléculairement aux urées monosubstituées et bisubstituées dissymétriques.

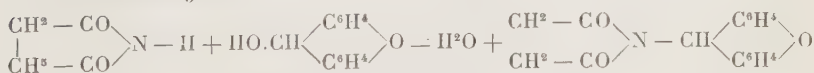


Les urées bisubstituées symétriques



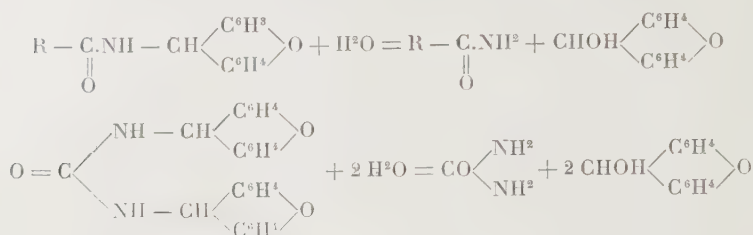
refusent, par contre, de se condenser avec le xanthidrol.

L'hydrogène de l'azote des imides est remplaçable par le radical xanthyle

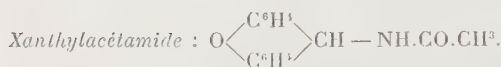


(1) W. ADRIANI, De werking van xanthidrol op eenige amiden en aminen. Thèse. Leide, 1914. — *Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas*, 1915. t. XXXV, p. 180-210.

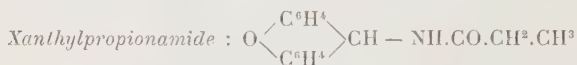
Tous ces composés azotés, mono- ou dixanthylés, se scindent au contact des acides minéraux en régénérant leurs composants ou en formant les produits d'altération qui en dérivent :



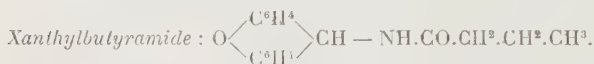
Amides xanthylées.



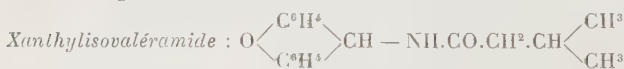
Aiguilles brillantes, fondant sur le bain de mercure avec sublimation vers 245° (n. c.). Fusion tube étroit, 238°-244° (n. c.).



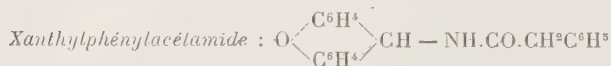
Belles aiguilles incolores, fusion tube étroit, 211°-214° (n. c.).



Belles aiguilles incolores, fusion tube étroit, 186°-187° (n. c.).

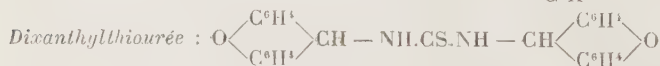


Aiguilles soyeuses blanches; fusion tube étroit 182°-184° (n. c.).



Belles aiguilles soyeuses, fusion tube étroit, 196°-197° (n. c.).

Diamides xanthylées.

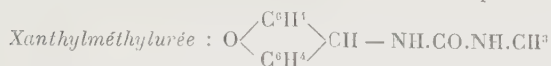


Fines aiguilles de l'acide acétique bouillant, se décomposant en fondant, tube étroit, au-dessus ou au-dessous de 200°, suivant la vitesse de l'élévation de la température.

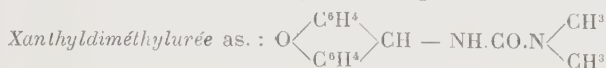


Cristaux microscopiques du toluène ou du xylène bouillants. Fusion-

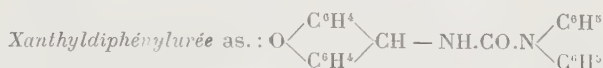
décomposition en un liquide coloré au-dessus et au-dessous de 220° suivant la vitesse avec laquelle on élève la température.



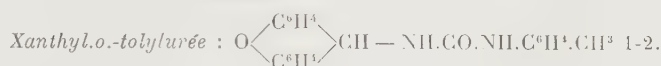
Cristaux incolores, qui se déposent très lentement d'une solution alcoolique-acétique des deux composants. Point de fusion, 230°, variable avec la vitesse du chauffage. Le corps devient gris vers 220°. Adriani.



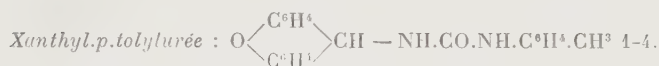
Beaux cristaux fondant à 225°. Adriani.



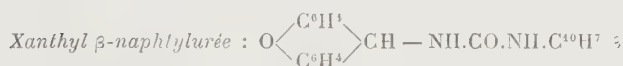
Fusion 179°-180°. Adriani.



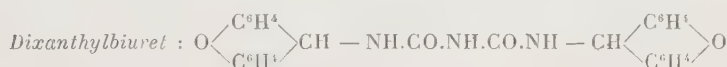
Fusion 228°. Adriani.



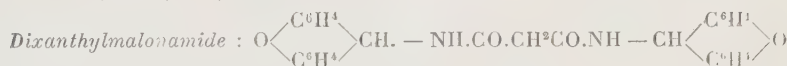
Adriani.



Adriani.



Fusion, 260° (n. c.).

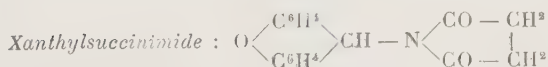


Fusion au-dessus ou au-dessous de 270°, suivant la lenteur du chauffage.



Commence à se décomposer, avant de fondre, aux environs de 275° (n. c.) en un liquide brun.

Imide xanthylée.



Beaux cristaux brillants, fondant de 245° à 247° (n. c.) en liquide peu coloré.

Amido-acides xanthylés.



Fines aiguilles, fondant vers 193° (n. c.) après léger suilement vers 191°.

Xanthylcarbamate d'éthyle : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} - \text{NH} \cdot \text{CO}^2 \cdot \text{C}^2\text{H}^5$

Fines aiguilles, fondant à 168°-169° (n. c.).

Xanthylcarbamate d'isobutyle : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^2\text{H}^4 \end{array} \text{CH} - \text{NH} \cdot \text{CO}^2 \cdot \text{C}^4\text{H}^7$

Fusion 148° (n. c.). Longues aiguilles très fines, groupées.

Xanthylcarbamate d'isoamyle : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} - \text{NH} \cdot \text{CO}^2 \cdot \text{C}^8\text{H}^{11}$

Fusion, 145° (n. c.).

Acide xanthylsuccinamique : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} - \text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CO}^2\text{H}$

Cristaux incolores de l'alcool, provenant de l'action de KOH sur la xanthylsuccinamide. Fusion. 193°-196° (n. c.).

Le sel d'argent, $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} \cdot \text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CH}^2 \cdot \text{CO}^2\text{Ag}$, se présente en aiguilles soyeuses blanches, noircissant à la lumière.

Amines xanthylées.

Xanthylméthylnitramine : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} - \text{N} \begin{array}{c} \text{CH}^3 \\ \diagdown \\ \text{NO}^2 \end{array}$

Aiguilles fusibles à 117°5 Adriani.

Xanthyldiméthylaniline : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} - \text{C}_6\text{H}_5 \text{N}(\text{CH}^3)^2$

Aiguilles incolores, fondant sur le bain de mercure à 157°-158° (n. c.), se formant aisément par contact des deux composants en milieu acétique ou acéto-alcoolique. Le chlorhydrate $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} \cdot \text{C}^6\text{H}^5 \cdot \text{N}(\text{CH}^3)^2$, HCl. cristallisé en aiguilles est dissociable par l'eau.

Xanthylaniline : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} - \text{C}^6\text{H}^5 \cdot \text{NH}^2$.

Fusion 185°5-187°. Obtenue par Adriani dans l'action du xanthidrol sur l'aniline ou son chlorhydrate en milieu alcoolique-acétique et en traitant par HCl le composé qui suit.

Dixanthylaniline : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} \cdot \text{C}^6\text{H}^5 \text{NH} - \text{CH} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{O}$

Cristaux incolores, fondant vers 175°, engendrés en milieu alcoolique, additionné de 1/10 de son volume d'acide acétique. Adriani.

Adriani a préparé les dérivés xanthylés qui suivent :

Dixanthylméthylaniline : $\text{O} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{CH} \cdot \text{C}^6\text{H}^5 - \text{N} \begin{array}{c} \text{CH}^3 \\ \diagdown \end{array} - \text{CH} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{O}$

Dixanthyltoluidine : o. m. p.

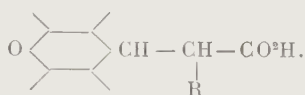
Dixanthylxylylidine : CH^3 1 CH^3 3 NH^3 4

Xanthylxylylidine : 1-3-2, fusion, 170°C .

Xanthylnitraniline : o. m. p.

Dixanthylnaphtylamine : α et β .

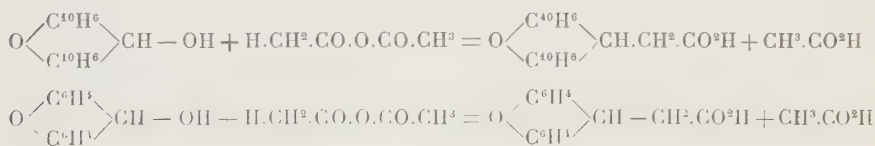
3. ACTION DES ANHYDRIDES D'ACIDES SUR LE XANTHYDROL OU LE DINAPHTOPYRANOL. SYNTHÈSE D'ACIDES



La singulière ressemblance du xanthydrol à un aldéhyde se manifeste également dans son attitude à l'égard des anhydrides d'acides.

Au lieu de former des éthers-sels comme tous les alcools il donne des acides.

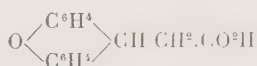
L'anhydride acétique transforme le dérivé hydroxylé du dinaphtopyrane et du xanthane en acides, dinaphtopyryl- et xanthyl-acétiques, engendrés par élimination de 1 molécule d'eau entre l'oxydryle pyranolique et 1 atome d'hydrogène de l'anhydride



A la double soudure près, cette réaction est comparable à la synthèse des acides éthyléniques de Perkin, réalisée par l'action des anhydrides d'acides sur les aldéhydes.

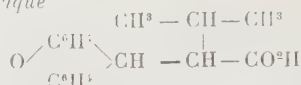


L'acide xanthylacétique



se présente en belles aiguilles incolores, fondant à 155° - 156° n. c. Il est sublimable, soluble dans l'alcool, un peu soluble dans l'eau chaude. Il se produit en tube scellé, accompagné d'autres substances.

L'acide xanthylisovalérique

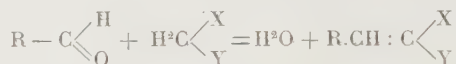


fond de 147 à 150° (n. c.).

Les acides dinaphtopyrylés se forment avec plus de facilité et de meilleurs rendements que ceux dérivés du xanthyle.

4. ACTION DES MOLÉCULES MÉTHYLÉNIQUES SUR LE XANTHYDROL. — On sait que les aldéhydes possèdent la faculté de se condenser avec les acides et éthers, maloniques ou cyanacétiques, avec les β dicétones, avec les éthers β cétoniques...

En désignant par X et Y des groupements tels que CO^2H , $\text{CO}^2\text{C}^2\text{H}^5$, CN, COCH^3 , COC^6H^5 ... on peut représenter ces condensations par

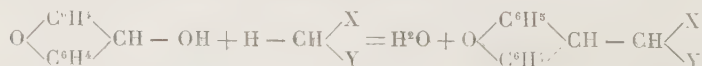


Cette égalité représente le résultat final des réactions bien connues de Claisen, Claisen et ses élèves, Knœvenagel, Fiquet, Haller, etc.

Elles ont enrichi la littérature d'une foule de composés éthyliques nouveaux à fonctions : monoïque ou dioïque ; monoïque et nitrile ; monoïque et cétone ; nitrile, mono- ou dicétone.

Comme les aldéhydes, le xanthydrol peut s'unir aux molécules méthyléniques (1).

L'oxyhydre de cet alcool s'empare d'un atome d'hydrogène méthylénique pour former de l'eau, tandis que les deux radicaux monovalents qui en résultent se soudent en produisant un composé xanthyl-méthylénique saturé.



Les alcools aromatiques de la série du di- et du triphénylméthane sont susceptibles de se comporter comme le xanthydrol à l'égard des molécules méthyléniques [R. Fosse (2), L. Baillon (3)].

(1) R. FOSSE et A. ROBYN, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1906, t. CXLIII, p. 239. *Bulletin Société chimique*, 1906, t. XXXV, p. 1013.

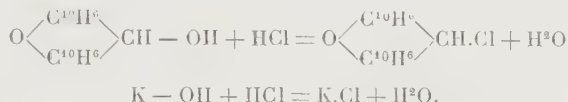
(2) R. FOSSE, Alcools aromatiques. Sur le tétraméthylamidobenzhydrol. Remplacement de l'oxyhydre par des restes méthyléniques. *Annales de Chim. et Phys.*, 1909, 8^e série, t. XVIII, p. 400-569.

(3) L. BAILLON, Méthodes de synthèse d'une nouvelle série d'acides aromatiques. *Thèse de Lille*. 1909.

B. — Propriétés basiques, inorganiques et métalliques du dinaphtopyranol et du xanthidrol. Sels de pyryle.

Le dinaphtopyranol est le premier dérivé hydroxylé, organique, non azoté, connu qui jouisse des propriétés suivantes :

Au contact des acides chlorhydrique et bromhydrique aqueux, il se conduit comme une base minérale, en donnant non des *éthers*, mais de véritables sels, les sels de pyryle :



Le chlorure et le bromure ainsi formés sont, comme des sels métalliques, précipités par l'hydrogène sulfuré à l'état de sulfure de leur solution dans l'eau acidulée.

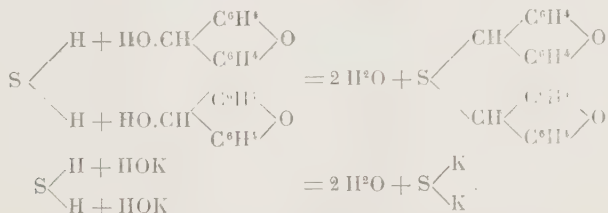
Ils produisent des réactions de double décomposition.

Ils se combinent à nombre d'haloïdes métalliques qu'ils précipitent de leur solution ou qu'ils déplacent de leurs sels doubles pour former une riche variété de combinaisons définies, cristallisées, fortement colorées.

Le dinaphtopyranol ou ses sels, dissous dans l'acide acétique, précipitent de leur solution les halogènes, pour produire des perhaloïdes de pyryle et la plupart des réactifs connus des alcaloïdes pour former des corps fortement colorés, souvent cristallisés.

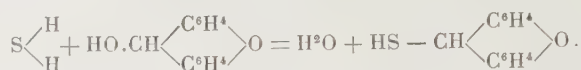
1. ACTION DE L'HYDROGÈNE SULFURÉ ET DE L'EAU OXYGÉNÉE SUR LE XANTHIDROL. — Le xanthidrol prend, vis-à-vis de ces réactifs, la frappante allure d'une base minérale.

Au contact du sulfure d'hydrogène il se transforme, comme la potasse, en sulfure, le sulfure de xanthyle :

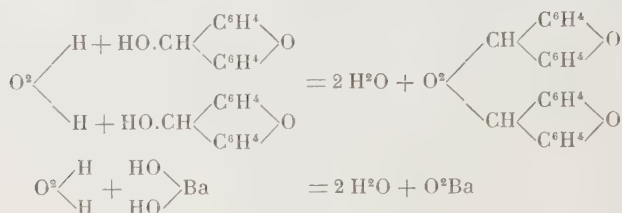


Il est probable que la formation du sulfure neutre est pré-

cédée de celle du sulfhydrate de xanthyle intermédiaire, non encore isolé



Le peroxyde d'hydrogène métamorphose le xanthidrol en peroxyde, d'après une réaction semblable à celle qu'il exerce sur l'hydrate de baryte



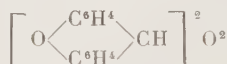
Ici, encore, il est permis d'admettre la production intermédiaire d'un hydrate de peroxyde, précurseur du peroxyde.

Le sulfure de xanthyle



fond en se décomposant, tube étroit de 149° à 153°, avec production d'un liquide rouge foncé. On l'obtient par l'action de H²S sur le xanthidrol dissous dans l'acide acétique hydraté. L'acide chlorhydrique le dédouble en H²S et chlorure de xanthyle instable.

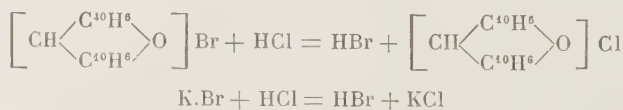
Le peroxyde de xanthyle



peu soluble dans l'alcool, très soluble dans le benzène, se précipite par l'introduction d'eau oxygénée dans la solution acétique de xanthidrol.

2. RÉACTIONS DE DOUBLES DÉCOMPOSITIONS. — L'acide chlorhydrique déplace le brome du bromure de pyryle en produisant de l'acide bromhydrique et du chlorure de pyryle.

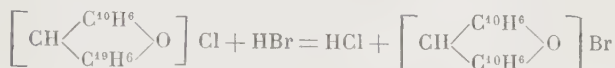
Ce dérivé organique bromé, non azoté, se comporte donc comme un véritable bromure métallique vis-à-vis de l'acide chlorhydrique



Inversement, l'acide bromhydrique chasse le chlore du chlo-

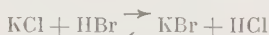
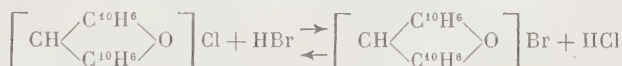
ture de pyryle avec formation d'acide chlorhydrique et de bromure de pyryle.

Le chlorure de pyryle se conduit donc comme un sel métallique à l'égard de l'acide bromhydrique

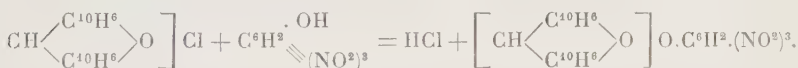


On peut à volonté, comme pour les sels haloïdes de potassium, passer du chlorure de pyryle au bromure ou effectuer la transformation inverse.

Comme pour le cas des sels métalliques, ces transformations réversibles font prévoir l'existence, dans les solutions acides de sels de pyryle, d'équilibres, caractérisés par un certain partage de la base organique oxygénée entre les masses actives des acides antagonistes.



L'*acide picrique* transforme, à froid, les sels de pyryle (chlorure, bromure, sulfate) dissous dans l'acide acétique en picrate de pyryle peu soluble et acides minéraux libres.

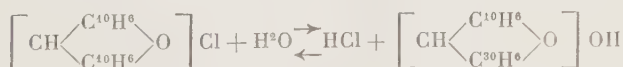


Le déplacement par l'acide picrique de l'halogène d'un composé organique dépourvu d'azote était sans exemple.

Cette curieuse réaction peut être comparée au déplacement du potassium de son chlorure par l'acide picrique.

Nous l'expliquons de la manière suivante :

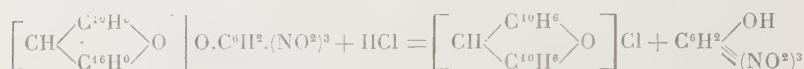
Le chlorure et le bromure de pyryle, en solution dans un mélange d'acide acétique et d'eau, éprouvent une dissociation partielle en hydroxyde de pyryle et acide picrique.



L'acide picrique détruit cet équilibre en précipitant le pyranol sous forme de picrate. Il se forme une nouvelle dose d'hydra-

cide et de pyranol. Celui-ci est abattu par l'acide picrique. La succession de ces phénomènes se poursuit jusqu'à ce que la totalité ou la presque totalité de l'halogène et du radical pyryle soient séparés de leur combinaison initiale et transformés, le premier en hydracide dissous, le second en picrate insoluble.

Inversement, l'acide chlorhydrique déplace l'acide picrique du picrate avec formation de chlorure de pyryle

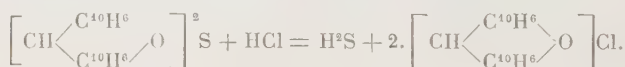


3. PRÉCIPITATION PAR L'HYDROGÈNE SULFURÉ DES SELS DE PYRYLE A L'ÉTAT DE SULFURE. — Un courant de H^2S traversant un sel de pyryle dissous dans un acide minéral ou organique, provoque rapidement la décoloration de la liqueur et la formation d'un précipité de sulfure de pyryle



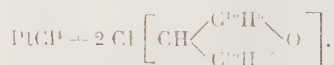
Les sels de pyryle se conduisent donc comme des sels métalliques en présence de l'hydrogène sulfuré.

Inversement les acides minéraux dilués décomposent, à chaud, le sulfure en sel de pyryle et hydrogène sulfuré



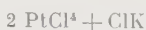
4. APTITUDE DES RADICAUX DINAPHTOPYRYLE ET XANTHYLE A FORMER DES COMBINAISONS INSOLUBLES OU PEU SOLUBLES AVEC LES HALOÏDES MÉTALLIQUES ET MÉTALLOÏDIQUES. — Un certain nombre de chlorures et de bromures métalliques ou métalloïdiques précipitent, à l'état de combinaisons définies, colorées, et généralement cristallisées, le xanthidrol et surtout le dinaphtopyranol, dissous dans les acides minéraux dilués ou dans un mélange d'acide acétique et d'hydracide.

Le caractère électro-positif du radical dinaphtopyryle apparaît avec une singulière netteté dans son chloroplatinate (1)



(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1904, t. CXXXIII, p. 100.

Si l'on compare ce sel double au chloroplatinate de potassium



on voit que l'atome métallique du potassium et le radical organique, sans azote, *dinaphtopyryle*, jouent identiquement le même rôle dans les deux formules.

En collaboration avec Lesage (1), nous avons préparé des sels doubles pyrylhalogénés des métaux ou métalloïdes qui suivent :

Platine,	Cuivre,	Fer,	Étain,
Palladium,	Plomb,	Cobalt,	Bismuth,
Or,	Uranium,	Cadmium,	Antimoine,
Mercure,	Manganèse,	Zinc,	Arsenic.

Lesage (2) a décrit un nombre important de nouvelles combinaisons pyrylées halogénées avec les métaux et les métalloïdes.

Voici les sels doubles connus jusqu'ici qui dérivent du xanthidrol seulement :

Platine.



Poudre orangée (F. et L.).

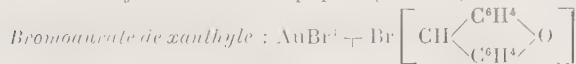


Précipité jaune orangé (F. et L.).

Or.



Cristaux jaunes microscopiques (F. et L.).



Petits cristaux rouge brique (F. et L.).

Cuivre.



Petits cristaux violet sombre. (F. et L.).

(1) R. FOSSE et L. LESAGE, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1905, t. CXL, p. 1402; 1905, t. CXLI, p. 625; 1906, t. CXLII, p. 1543.

(2) L. LESAGE, Contribution à l'étude des sels de pyrrole. Thèse de Lille, 1912.

Mercure.

Cristaux jaune safran (F. et L.).



Cristaux jaune d'or (F. et L.).

Plomb.

Petits cristaux marron clair (F. et L.).

Uranium.

Cristaux prismatiques jaune d'or (F. et L.).



Cristaux jaune d'or (F. et L.).

Fer.

(A. Werner.)



Cristaux microscopiques rouge vif (F. et L.).

Zinc.

Cristaux jaune orangé (F. et L.).

Cadmium.

Petits cristaux jaunes (F. et L.).

5. ACTION DES RÉACTIFS ALCALOÏDIQUES SUR LE DINAPHTOPYRANOL ET LE XANTHYDROL. — On provoque la formation de précipités colorés, souvent cristallisés, en traitant les solutions de sels de dinaphtopyryle dans les acides minéraux ou, suivant le cas, de

dinaphtopyranol dans l'acide acétique par les réactifs alcaloïdiques qui suivent :

Acide picrique,	Ferricyanure de potassium,
Tanin,	Acide molybdique,
Chlore,	Acide nitroprussique,
Brome,	Acide phosphotungstique,
Iode,	Acide phosphomolybdique,
Acide perchlorique,	Acide silicotungstique,
Ferrocyanure de potassium,	Acide vanadique.

Le xanthidrol ne précipite que quelques-uns de ces réactifs.

Il abat en solution acétochlorhydrique :

Le chlore,	L'iode,
Le brome,	L'acide iodhydrique,

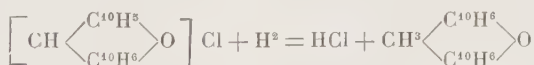
et en solution acétique :

L'acide silicotungstique,	L'acide phosphotungstique.
---------------------------	----------------------------

Il produit ainsi des silico et phosphotungstates de xanthyle, jaunes, très peu solubles.

C. — Propriétés oxydantes des sels de pyryle et des pyranols.

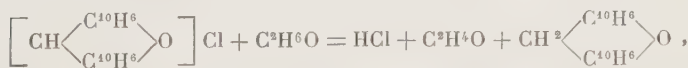
ACTION DE L'ALCOOL. — Les sels de pyryle subissent, en présence de ce réactif, une curieuse transformation : ils se dédoublent par réduction en carbure pyranique et hydracide



L'hydrogène nécessaire est fourni par l'alcool qui passe à l'état d'aldéhyde



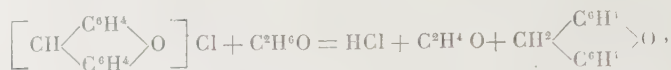
Cette réaction représentée par l'égalité



peut être comparée, abstraction faite de l'azote, à celle des sels de diazonium



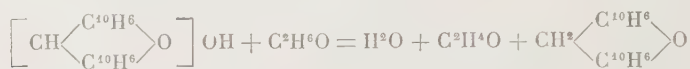
Le xanthidrol, traité à chaud par l'alcool chlorhydrique, donne naissance également au xanthane et à de l'éthanal



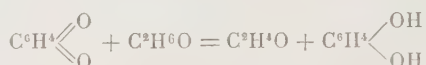
Nous avons pu, par cette méthode, passer de plusieurs pyranols aux pyranes correspondants (R. Fosse et A. Robyn) (1).

Pour réaliser l'oxydation de l'alcool, il n'est point nécessaire de faire appel à l'acide chlorhydrique.

En présence d'alcool, le dinaphtopyranol, dissous dans l'acide acétique, se réduit à l'état de dinaphtopyrane avec formation d'éthanal et d'eau



La réaction est ici comparable à l'oxydation de l'alcool par les quinones

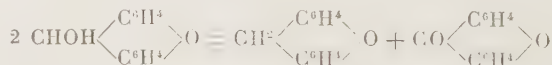


Action des iodures métalliques et de l'acide iodhydrique. — Les sels de dinaphtopyryle et le dinaphtopyranol en milieu acétique, déplacent l'iode des iodures et de l'acide iodhydrique.

Le xanthidrol en milieu acétique ne produit pas de précipité avec les iodures métalliques, mais il décompose à froid l'acide iodhydrique libre en formant un dérivé iodé et un produit de réduction.

Cette attitude du xanthidrol à l'égard des iodures, nous a permis d'instituer une méthode de dosage de l'urée dans le sérum sanguin, préalablement désalbuminé par le réactif iodo-mercurique de Tanret.

Action oxydante et réductrice du xanthidrol sur lui-même. — La solution acétique de ce corps produit peu à peu, même à froid, du xanthane et de la xanthone, formés d'après l'égalité



Dans des conditions expérimentales différentes, cet alcool se

(1) R. FOSSE et A. ROBYN, *Bull. Soc. chim.*, t. XXXI, 1904, p. 257-267.

comporte donc comme les aldéhydes qui, en présence des alcalis, s'oxydent et se réduisent simultanément pour donner l'acide et l'alcool correspondants (Cannizzaro).



CHAPITRE III

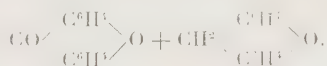
PRÉPARATION DU XANTHYDROL ET CONDITIONS DE SON EMPLOI

Ce corps est apparu dans le commerce, à un prix élevé, peu après l'époque où nous avons fait connaître son application au dosage de l'urée dans le sang. La plupart des échantillons que nous y avons rencontrés étaient assez impurs, ils se dissolvaient, plus ou moins incomplètement, dans l'alcool, par suite de leur teneur plus ou moins grande en oxyde de xanthyle.

1. PRÉPARATION DU XANTHYDROL PUR. — En réduisant la xanthone par l'amalgame de sodium, Richter (1) n'a pas obtenu le xanthydrol correspondant, mais le xanthane (improprement dénommé xanthène)

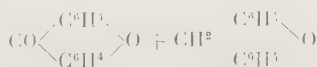


accompagné d'une substance fondant à 200° qu'il considérait comme formée de molécules égales de xanthone et de xanthane



Il chauffait, au bain-marie bouillant, la xanthone en solution dans l'alcool à 45 p. 100, pendant 6 à 8 heures, avec de l'amalgame de sodium à 3 p. 100, qu'il introduisait peu à peu jusqu'à cessation de dégagement d'hydrogène.

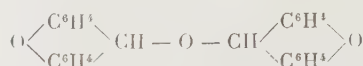
R. Meyer et Saul (2) ont montré que le corps auquel Richter attribuait la formule



(1) RICHTER, *Journal für prak. Chem.*, 1883, t. XXVIII, p. 290.

(2) R. MEYER et SAUL, *Berichte*, 1893, t. XXVI, p. 1276.

était en réalité l'éther oxyde



correspondant au xanthydrol, alors inconnu.

R. Meyer et Saul ont réussi à préparer cet hydrol de la xanthone, en traitant celle-ci en solution alcoolique, au bain-marie, *durant un jour*, par la soude et la poudre de zinc. Ils opéraient sur 40 grammes de xanthone, 40 grammes de soude et 400 cent. cubes d'alcool, c'est-à-dire 4 litres de ce solvant pour 100 grammes de xanthone.

Nous nous procurons facilement le xanthydrol *pur*, en agitant avec de l'amalgame de sodium la xanthone *pure*, pulvérisée en suspension dans l'alcool.

PROPORTION DES RÉACTIFS.

Xanthone pure, finement pulvérisée et tamisée	100 grammes.
Alcool à 95°	700 cent. cubes.
Sodium	36 grammes.
Mercure	3.000 gr. ou 220 cent. cubes.

Mode opératoire. — A l'aide d'une tige de fer recourbée, on plonge, par petites portions, le sodium, privé de toute trace de naphte, à surface brillante, dans le mercure parfaitement net, très légèrement chaud, contenu dans une petite marmite en fonte, dont le couvercle porte une ouverture circulaire.

Pendant qu'il est encore liquide (110° à 100°), l'alliage est coulé rapidement dans un flacon, muni d'une fermeture à l'émeri (1), de 2 litres, sortant de l'étuve à 110°.

On plonge un thermomètre dans l'amalgame. Dès qu'il marque 50°, on ajoute la xanthone, l'alcool, bouche et agite vigoureusement. La température du liquide s'élève bientôt aux environs de 50 à 55°; il se colore en bleu; la xanthone disparaît progressivement.

En débouchant le vase, de temps à autre, on constate d'abord une compression, puis une dépression. La coloration s'affaiblit peu à peu.

(1) L'emploi d'un bouchon de liège a pour effet de communiquer à la liqueur alcaline une teinte jaune, plus ou moins accentuée.

La réduction est terminée lorsque la solution, encore chaude, n'acquiert plus la moindre teinte, bleue ou jaune, au contact du mercure fortement brassé, contenant un excès d'amalgame.

Durée de cette partie de l'expérience : 15 minutes environ.

Si une portion de liqueur filtrée possédait la moindre teinte, on placerait le vase quelques minutes dans un bain d'eau, maintenu vers 60°, puis on l'agiterait, hors du bain, jusqu'à obtention d'un filtrat *incolore*.

Précipitation et dessiccation du xanthydrol. — On filtre sur papier Chardin, lave vase et filtre avec de l'alcool.

La liqueur additionnée, peu à peu, de plusieurs fois son volume d'eau, dépose le xanthydrol cristallisé, qu'on essore, lave à l'eau et sèche dans le vide sur chlorure de calcium, jusqu'à poids constant.

Caractères du xanthydrol ainsi préparé. — Matière blanche, légère, très volumineuse, inodore.

7 cent. cubes de méthanol à 99°5 ou 10 cent. cubes d'alcool éthylique absolu du commerce dissolvent 1 gramme de xanthydrol à la température ordinaire, par simple agitation. (Ces chiffres ne représentent nullement le coefficient de solubilité.)

2. CONDITIONS DE LA CONDENSATION. — *Choix de l'acide acétique comme agent de condensation.*

La condensation du xanthydrol et de l'urée a lieu en milieu acide.

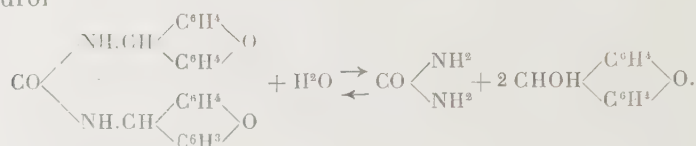
Une solution alcoolique neutre de ces deux corps demeure limpide pendant plusieurs semaines; en quelques minutes, elle se trouble, au contraire, par suite de la formation de l'urée dixanthylée, si on lui ajoute une ou plusieurs fois son volume d'acide acétique.

On ne peut guère songer à utiliser avec avantage, comme agents de condensation, les acides minéraux, qui provoquent une altération trop rapide du xanthydrol et exercent, en outre, une action destructive, plus ou moins marquée, aussi bien sur l'urée que sur l'uréine.

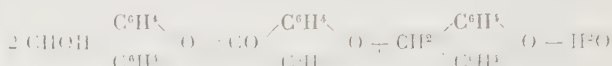
L'acide acétique, dans les conditions de nos expériences, ne manifeste pas d'action hydrolytique *sensible* sur l'urée et sur l'uréine.

Celle-ci peut subir, cependant, l'hydrolyse par l'acide acé-

tique, mais d'une manière très lente et très limitée, surtout à la température ordinaire et en présence d'un excès de xanthidrol



Quant au xanthidrol, sa destruction en xanthone et xanthane commence dès l'instant de son entrée dans le milieu acétique

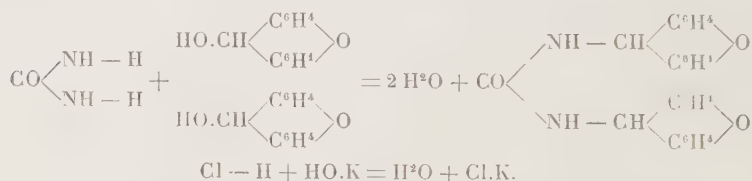


Mais la vitesse de cette réaction étant beaucoup plus lente que la vitesse de condensation du xanthidrol et de l'urée, l'emploi de l'acide acétique convient pour produire l'urée xanthylée.

Nous l'utilisons non seulement dans ce but, mais aussi pour participer à la dissolution du xanthidrol et de ses produits de décomposition.

Précipitation rapide de l'urée. — Dans une solution concentrée de xanthidrol dans l'acide acétique cristallisable, introduit-on quelques gouttes de liqueur aqueuse d'urée ou d'urine : un précipité d'urée apparaît immédiatement.

La condensation paraît être instantanée; l'élimination d'eau entre composants est si prompte qu'elle rappelle, *jusqu'à un certain point*, une réaction de chimie minérale à vitesse infiniment grande, la neutralisation des acides par les bases.



Cette rapidité de combinaison peut être intéressante au point de vue théorique, elle l'est moins au point de vue pratique de l'identification et du dosage de l'urée.

L'urée, ainsi formée, est impure, elle englobe des parcelles de xanthidrol que des lavages même prolongés sont impuissants à lui enlever, de sorte que son poids devient légèrement supérieur à celui indiqué par la théorie, quand on opère avec

une liqueur d'urée de titre connu; elle ne paraît pas cristallisée même aux plus forts grossissements du microscope; enfin, elle est si ténue qu'elle traverse les filtres à sulfate de baryte et que, pour la recueillir sans pertes, il faut alors avoir recours aux filtres de porcelaine.

Précipitation de l'urée à l'état cristallisé. — Le précipité se dépose, cristallisé et presque pur à l'analyse, si l'on provoque la condensation moins précipitamment, dans un milieu de plus grande dilution.

Le mode opératoire adopté consiste à introduire, par portions ou en totalité, une certaine quantité de solution alcoolique de xanthidrol dans la liqueur aqueuse d'urée, convenablement étendue d'acide acétique. Les proportions de xanthidrol, d'alcool, d'acide acétique et d'eau ont été prises de telle manière que leur mélange, sans urée, conserve une limpidité parfaite durant 12 heures au moins.

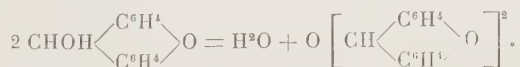
Dans ces conditions, les produits moins solubles, provenant de l'altération du xanthidrol, la xanthane et le xanthone demeurent en solution.

Mode d'emploi du xanthidrol. — La théorie pour précipiter 1 gramme d'urée exige 6 gr. 53 de xanthidrol. La quantité *minimum* de réactif qui était de 15 grammes dans nos premières expériences, a été abaissée à 10 grammes.

Nous avons d'abord utilisé une solution à 1/20 dans l'alcool à 95°, puis à 1/10 dans l'alcool absolu et finalement à la même concentration 1/10 dans le méthanol (1 gramme de xanthidrol pour 10 cent. cubes de CH³OH à 99°5).

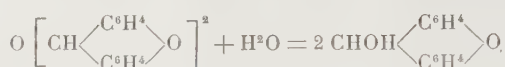
Ces solutions peuvent être préparées à l'avance. Cependant elles s'altèrent, surtout à la chaleur et au soleil. Lorsqu'elles sont destinées à des dosages, il est préférable d'éviter de les conserver au delà de deux à trois semaines.

Le xanthidrol, non dissous, n'est même pas à l'abri de toute transformation, s'il n'est parfaitement pur. Il se métamorphose alors spontanément, surtout pendant l'été, sous l'influence d'une trace d'impureté, en oxyde de xanthyle, insoluble ou très peu soluble dans l'alcool froid

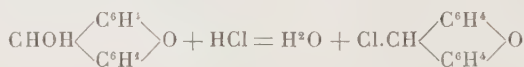


Le produit reste encore utilisable surtout pour l'analyse qualitative : il suffit de le triturer avec de l'acide acétique jusqu'à dissolution. La solution à 1/10, ainsi préparée *à froid et seulement au moment de son emploi*, peut remplacer la solution alcoolique.

Au contact de l'acide acétique, l'oxyde de xanthyle s'hydrate et repasse à l'état de xanthidrol



Si l'acide acétique, ainsi employé au traitement de l'oxyde de xanthyle, était impur et contenait, comme il arrive parfois, de petites quantités d'un acide minéral libre, la solution, teintée en rouge au lieu d'être incolore, se troublerait peu après sa préparation et abandonnerait de l'oxyde de xanthyle



3. SUBSTANCES A ÉLIMINER DE LA SOLUTION D'URÉE AVANT D'OPÉRER LA PRÉCIPITATION. — Des nombreux corps que nous avons combinés au xanthidrol très peu le précipitent de ses solutions dans les conditions de nos expériences d'identification et de dosage de l'urée.

Parfois la combinaison a lieu; mais, soluble ou dissociable, elle ne se précipite point; parfois elle n'apparaît que très lentement, longtemps après que la totalité de l'urée a été précipitée; le plus souvent, enfin, elle ne trouve point dans le milieu réactionnel les conditions favorables à sa formation.

Voici les corps qu'il convient de neutraliser, de transformer ou d'éliminer, soit parce qu'ils produiraient des précipités, soit parce qu'ils altéreraient trop rapidement le réactif.

1° *Acides à neutraliser par les alcalis* : Fluorhydrique, chlorhydrique, bromhydrique, iodhydrique, sulfurique, azotique, phosphorique, phosphoreux, phosphotungstique, phosphomolybdique, etc.

2° *Substances à transformer* : Haloïdes de platine, d'or, de cuivre, de mercure, d'uranyle, de fer, de zinc, de cadmium.

Plusieurs de ces sels ne précipitent le xanthidrol que lorsqu'ils se présentent à une certaine concentration et accompagnés d'une dose plus ou moins élevée d'acides chlorhydrique ou bromhydrique. Il en résulte que ce cas se ramène partiellement au précédent. Toute chance de former un précipité xanthylmétallique sera écartée si on fait passer à l'état d'haloïde alcalin l'halogène libre de l'hydracide et l'halogène combiné au métal. Il suffira donc de rendre la liqueur nettement alcaline par la potasse, puis de la traiter par l'acide acétique et, enfin, par le xanthidrol.

3° *Substances à éliminer ou à détruire* : Halogènes; acides hypochloreux, hypobromeux et leurs sels.

Eau oxygénée; peroxydes; persels.

Hydrogène sulfuré.

Thiourée; phénylthiourée; phénylurée

Diméthylaniline.

Pyrrol; indol; scatol.

Néglige-t-on d'effectuer l'opération préliminaire que nous venons d'indiquer; la solution à examiner contient-elle une ou plusieurs substances, précipitant le xanthidrol, signalées ou non dans l'énumération précédente; alors la diagnose de l'urée devient un peu moins aisée et rapide, mais elle est toujours possible.

Il suffit d'appliquer aux corps précipités les procédés de l'analyse immédiate et d'identifier ensuite l'urée par l'analyse quantitative, ainsi que par ses caractères spécifiques donnés plus loin.

L'alcool bouillant permet d'extraire des traces d'urée mêlées à des quantités considérables de matières étrangères.

4. INFLUENCE, SUR LA VITESSE DE FORMATION DE L'URÉE, DE LA PRÉSENCE DE SUBSTANCES SANS AFFINITÉ POUR LE XANTHIDROL. — L'ammoniacque, les bases alcalines ainsi que d'autres corps minéraux ou organiques, en solution acétique, ralentissent d'une manière plus ou moins nette la condensation du xanthidrol et de l'urée.

Dans un milieu donné, d'où l'urée est complètement précipitable après 1 heure de condensation, introduit-on de l'ammoniacque, on constate que le poids d'urée xanthylée recueillie après une heure est très sensiblement inférieur à celui produit

par le milieu sans ammoniacque. Il faut alors plusieurs heures pour que la réaction soit terminée.

5. ACTION DU XANTHYDROL SUR LES COMPOSÉS BIOCHIMIQUES. — Cet alcool dont nous avons montré l'incomparable activité chimique ne précipite de leur solution acétique, dans les conditions expérimentales de notre méthode de dosage, aucun des corps qui suivent :

1° Ammoniacque ; méthyl, diméthyl et triméthylamine.

2° Guanidine ; créatine ; créatinine.

3° Arginine, d'après Hugounenq et Morel.

4° Glycocolle ; acide hippurique ; alanine ; leucine ; asparagine ; acide aspartique ; acide glutamique ; tyrosine ; tryptophane ; acide urique ; xanthine.

5° Albuminoïdes de l'œuf et du sang ; gélatine ; fibroïne ; peptone de Witte.

6° Glycérine ; érythrite ; mannite ; glucose ; lévulose ; saccharose ; dextrine.

7° Acides : formique, acétique, propionique, butyriques, valérianiques.

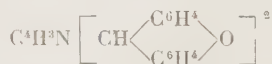
8° Acides-alcools : glycolique, lactique, citrique, tartriques.

9° Acides bibasiques : oxalique, succinique.

10° Matériaux de l'urine humaine et du sérum sanguin, autres que l'urée, préalablement détruite par l'uréase du Soja.

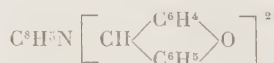
6. ACTION DU XANTHYDROL SUR LE PYRROL, L'INDOL ET LE SCATOL. — Le xanthydrol est précipité par ces trois substances biochimiques azotées en produisant des composés xanthylés dont nous avons établi la formule brute pour les deux d'entre eux qui suivent :

Dixanthylpyrrol



Cristaux incolores (du benzène), devenant opaques à l'étuve, commençant à se colorer en tube étroit vers 170° pour fondre avec décomposition de 195° à 200°, en un liquide rouge violacé.

Dixanthylindol



se colore à partir de 190° et fond lentement en se décomposant depuis 205° jusqu'à 214° pour donner un liquide rouge foncé.

CHAPITRE IV

 TECHNIQUE DE LA PRÉCIPITATION ET DE L'IDENTIFICATION DE L'URÉE
 AU MOYEN DU XANTHYDROL

Si l'on veut se borner à précipiter l'urée par le xanthydrol, la technique est des plus simples, il suffit de placer les deux corps en milieu acétique.

Désire-t-on obtenir, en même temps qu'une précipitation sensiblement intégrale, un produit de condensation pur ou à un degré de pureté connu, il faut alors opérer dans des conditions données, déterminées à l'avance.

La composition des milieux de précipitation doit varier évidemment avec la richesse des solutions en urée.

Nous considérerons trois catégories de solutions, correspondant à des concentrations en urée :

Supérieures à . . .	1g »	par litre ou à	$\frac{1}{1.000}$
Supérieures à . . .	0,05	—	$\frac{1}{20.000}$
Et inférieures à . .	1 »	—	$\frac{1}{20.000}$
Inférieures à . . .	0,05	—	$\frac{1}{20.000}$

Dans les deux premiers cas, les proportions de réactifs, adoptés pour l'analyse qualitative, sont les mêmes que celles que nous utiliserons plus loin pour l'analyse quantitative.

1. PRÉCIPITATION DE L'URÉE, PRISE A DES CONCENTRATIONS SUPÉRIEURES A 1 GRAMME PAR LITRE (1/1.000).

COMPOSITION DU MILIEU.

Solution aqueuse d'urée . . .	1	cent. cube.	20	cent. cubes.
Acide acétique cristallisable .	3,5	—	70	—
Solution de xanthydrol à 1/10 dans l'alcool méthylique . .	0,5	—	10	—
	5	cent. cubes	100	cent. cubes.

Mode opératoire. — Le mélange de solution d'urée et d'acide acétique reçoit le xanthydrol méthylique soit en une fois, soit en plusieurs, cinq par exemple à 10 minutes d'intervalle.

La bouillie cristalline est essorée 1 heure après la dernière addition de réactif. L'urée est lavée à l'alcool et séchée.

*Application de la méthode à des solutions de diverses concentrations,
Aspect microscopique du précipité.*

Cas d'une liqueur contenant 5 grammes d'urée par litre :

a) Dans 1 cent. cube de liqueur, correspondant par conséquent à 5 milligrammes (0 gr. 005) d'urée, on introduit succes-

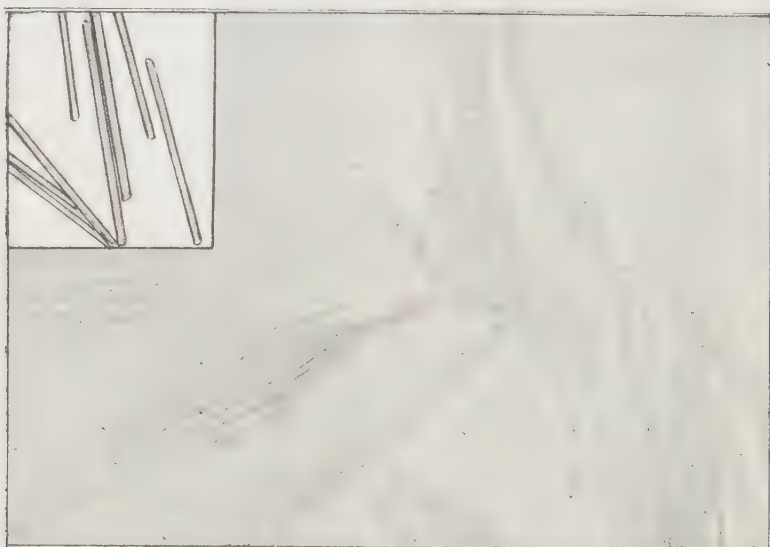


FIG. 1.

sivement 3 cent. cubes 5 d'acide acétique et 0 cent. cube 5 de xanthidrol méthylique. Presque aussitôt le mélange se trouble, prend l'aspect du lait d'abord, puis d'une bouillie blanche, formée de petites aiguilles, brillantes, visibles à l'œil nu.

Une goutte, examinée au microscope, apparaît peuplée d'aiguilles groupées, parallèlement, en faisceaux, en pinceaux ou en gerbes.

Au fort grossissement et en lumière artificielle, on peut constater qu'elles sont constituées par de longs filaments étroits, éclairés longitudinalement et limités par des bords parallèles sombres (fig. 1).

b) Même expérience, ne différant de la précédente que par l'introduction du xanthydrol en cinq portions égales à 10 minutes d'intervalle. Une goutte de la bouillie cristalline, examinée à un fort grossissement, en lumière artificielle, montre des filaments un peu plus larges que les précédents, à bords parallèles et groupés le plus souvent parallèlement à eux-mêmes.

c) Si au mélange précédent de liqueur d'urée et d'acide



FIG. 2.

acétique on n'ajoute qu'une très petite quantité de xanthydrol, insuffisante pour la dose d'urée en expérience (0 cent. cube 05 par exemple de la solution méthylique), le précipité apparaît bien plus lentement et en très faible proportion. Les cristaux sont formés, au microscope, de filaments beaucoup plus larges que les précédents, limités par deux bords parallèles, rassemblés parallèlement à eux-mêmes (fig. 2).

Cas d'une liqueur contenant 1 gramme d'urée par litre :

A 1 cent. cube de liqueur, correspondant à 1 milligramme (0 gr. 001) d'urée, on ajoute 3 cent. cubes 5 d'acide acétique et 0 cent. cube 5 de xanthydrol méthylique.

Dans une goutte du produit on voit flotter au microscope une multitude de petits ilots, formés de filaments groupés en faisceaux, gerbes, épis ou concentriquement autour d'un point, dans toutes les directions, à côté d'assemblages des mêmes filaments parallèlement à eux-mêmes.

Cas d'une liqueur contenant 0 gr. 5 d'urée par litre :

On opère sur 1 cent. cube, c'est-à-dire sur un demi-milligramme (0 gr. 0005) d'urée. Les petits cristaux brillants qui se

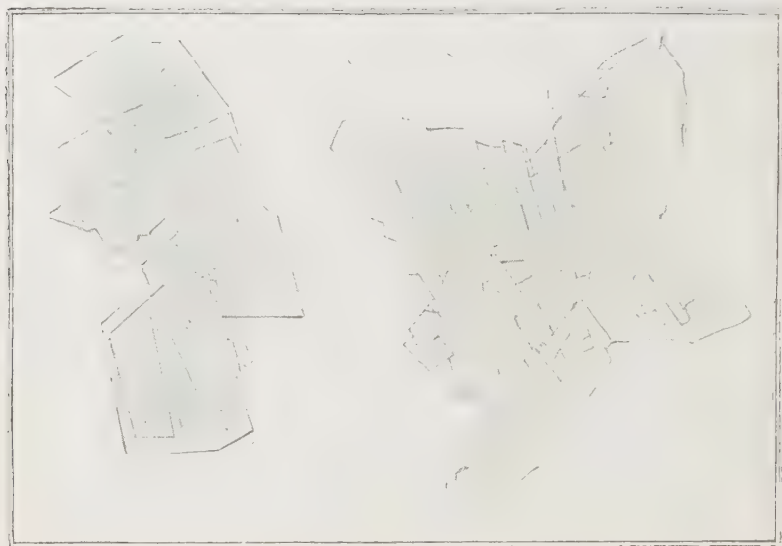


FIG. 3.

séparent sont formés au microscope de larges filaments groupés, offrant souvent l'aspect de tables, présentant à leur surface des inclusions nombreuses de filaments plus étroits (fig. 3).

Cas d'une liqueur contenant 0 gr. 25 d'urée par litre :

On opère sur 1 cent. cube, c'est-à-dire sur deux dixièmes et demi de milligramme (0 gr. 00025) d'urée. Même aspect que celui du précédent précipité.

En répétant la même expérience sur une liqueur contenant

0 gr. 40 d'urée par litre, on n'obtient de précipité que le lendemain et à l'état de traces.

Quoique ce mode opératoire permette, ainsi qu'on vient de le voir, de précipiter l'urée à des dilutions bien supérieures au millième, nous préférons, dans le cas de telles concentrations, faire usage d'un milieu moins riche en xanthidrol et en acide acétique.

2. PRÉCIPITATION DE L'URÉE, PRISE A DES CONCENTRATIONS SUPÉRIEURES A 0 GR. 05 PAR LITRE ($1/20.000$) ET INFÉRIEURES A 1 GR. PAR LITRE.

COMPOSITION DU MILIEU.

Solution d'urée	1 cent. cube.	33 c.c. 3
Acide acétique cristallisable .	2 —	66 c.c. 6
Solution de xanthidrol à 1/10		
dans l'alcool méthylique . .	$3 \times \frac{1}{20}$ c.c. ou $3 \times 0,05$	5 c.c. »
		<hr/> 104 c.c. 9

Mode opératoire. — La liqueur d'urée est pourvue du double de son volume d'acide acétique, puis de xanthidrol méthylique, un vingtième du volume total ou 0 cent. cube 05 par centimètre cube de mélange.

Application de la méthode

à des solutions de diverses concentrations.

Cas d'une liqueur contenant 1 gramme d'urée par litre :

a) Un cent. cube correspondant à 1 milligramme (0 gr. 001) d'urée reçoit 2 cent. cubes d'acide acétique et 0 cent. cube 15 de xanthidrol méthylique à l'aide d'une pipette graduée au 1/100 de cent. cube. L'examen microscopique du précipité montre qu'il est constitué par des filaments étroits, groupés en gerbes et en faisceaux.

b) Même expérience en introduisant le réactif par portion de 0 cent. cube 05 à 10 minutes d'intervalle. Les filaments apparaissent groupés en faisceaux, gerbes, buissons et concentriquement autour d'un point.

Cas d'une liqueur contenant 0 gr. 5 d'urée par litre :

Aspect des cristaux au microscope : filaments groupés en rameaux et autour d'un point.

Cas d'une liqueur contenant 0 gr. 10 d'urée par litre :

Aspect du précipité au microscope : petites agglomérations formées de filaments groupés autour de points communs.

Cas d'une liqueur contenant 0 gr. 05 d'urée par litre :

1 cent. cube de liqueur correspondant à 5 centièmes de milligramme (0 gr. 00005) d'urée reçoit 2 cent. cubes d'acide acétique et 0 cent. cube 15 de xanthidrol. Après 8 à 10 minutes, le mélange laisse apparaître une trace de petits cristaux brillants. Nous sommes au voisinage de la limite de précipitation de l'urée dans les conditions de l'expérience. Cette limite peut être aisément franchie, si l'on met en œuvre des proportions moindres d'acide acétique.

3. PRÉCIPITATION DE L'URÉE PRISE A DES CONCENTRATIONS INFÉRIEURES A 0 GR. 05 PAR LITRE (1/20.000). — *Milieu acétique à 50 p. 100 environ.* — La méthode, d'une très grande sensibilité, permet de reconnaître aisément un centième de milligramme (0 gr. 00001) d'urée, emprunté à une liqueur titrée au cent millième 1/100.000.

COMPOSITION DU MILIEU.

Solution aqueuse d'urée.	1 cent. cube.	50 c. c.
Acide acétique cristallisable. . . .	1 cent. cube.	50 c. c.
Solution méthylique de xanthidrol.	$2 \times \frac{1}{25}$ ou $2 \times 0,04$	4 c. c.
		<hr/> 104 c. c.

Mode opératoire. — La solution d'urée, étendue de son volume d'acide acétique, reçoit du xanthidrol méthylique 1/25 du volume total ou 0 cent. cube 04 pour 1 cent. cube du mélange.

Précipitation et caractérisation de l'urée prise à la concentration de 1 centigramme par litre 1/100.000. — A 10 cent. cubes d'une telle solution on ajoute 10 cent. cubes d'acide acétique et 0 cent. cube 8 de xanthidrol méthylique, à l'aide d'une pipette au 1/100 de cent. cube.

Après 5 à 6 minutes environ d'abandon à la température ordinaire, la liqueur, limpide au début, se trouble, puis, peu après (2-3 minutes), produit de légers flocons en suspension dans le liquide. Ceux-ci augmentent et se réunissent en petits flots à contours irréguliers.

Après une heure de condensation, l'un d'entre eux, examiné au plus fort grossissement du microscope, en lumière artifi-

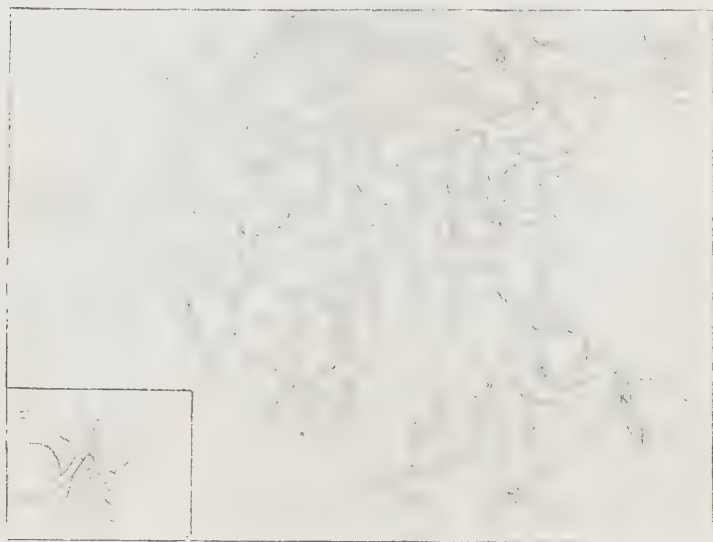


FIG. 4.

cielle, apparaît formé de très fines et très petites aiguilles recourbées, rassemblées autour de points communs (fig. 4).

Une liqueur témoin de composition semblable, sans urée, ne présentait qu'un louche extrêmement faible après 1 heure. Abandonnée 24 heures, elle contenait un dépôt peu important de cristaux blancs opaques, principalement formés de xanthane pouvant atteindre ou dépasser 1 cent. de long, paraissant formés de paillettes ou d'aiguilles parfois recourbées et ramifiées.

L'examen microscopique révèle qu'ils sont formés de lames losangiques assemblées de diverses façons (fig. 5).

Précipitation de 1 centième de milligramme d'urée à la dilution de 1/100.000.

La même expérience, instituée sur des quantités dix fois moindres (1 cent. cube de solution d'urée à 1/100.000 et d'acide acétique, 0 cent. cube 08 de xanthidrol méthylique), conduit au même résultat.

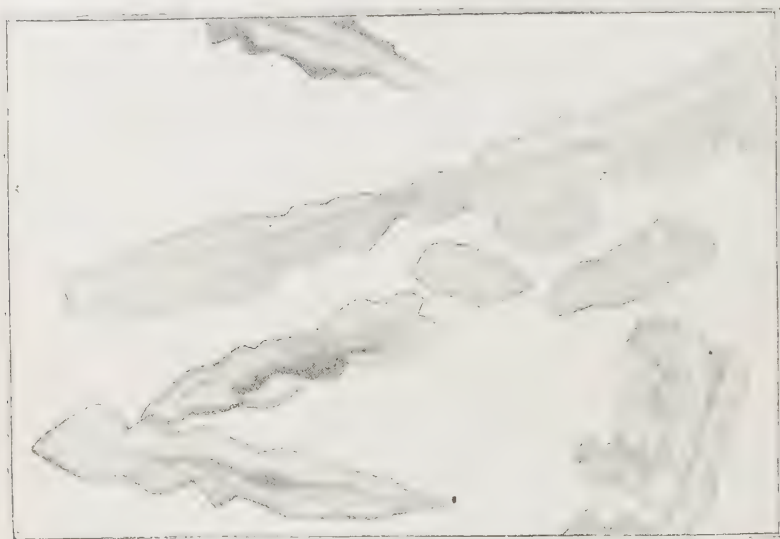


FIG. 3.

4. PRÉCIPITATION DE L'URÉE A DES DILUTIONS SUPÉRIEURES AU CENT MILLIÈME (1/100.000).

PROPORTION DES RÉACTIFS.

Acide acétique cristallisable	100 cent. cubes
Xanthidrol	0.08
Solution aqueuse d'urée	900 cent. cubes

Mode opératoire. — On ajoute la liqueur aqueuse d'urée à la solution de xanthidrol dans l'acide acétique.

Le précipité, recueilli le lendemain, lavé avec un peu d'alcool, est dissous au reflux dans ce solvant. L'urée xanthylée se dépose en filaments groupés caractéristiques.

Dilution de l'urée à 1/100.000. — *a)* Un litre d'acide acétique à 1/10 contenant 0 gr. 25 de xanthidrol et 0 gr. 01 d'urée, se trouble quelques minutes après sa préparation.

Une solution sans urée, de composition semblable, se trouble aussi mais plus lentement et avec moins d'intensité.

Après 17 heures, le témoin contenait de petits cristaux brillants de xanthone et de xanthane et la solution d'urée un dépôt floconneux, très volumineux, d'urée impure.

b) Cinq litres d'acide acétique à 1/10, contenant 0 gr. 75 de xanthidrol, reçoivent 0 gr. 0485 d'urée.

Poids du dépôt après deux jours, lavé à l'acide acétique à 1/10, à l'eau, puis séché : 0 gr. 3475.

Azote contenu dans ce produit brut trouvé. 6,26 p. 100

Azote pour $\text{CO} \left[\text{NHCH} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{O} \right]^2$ calculé. 6,66 p. 100

L'urée ainsi retrouvée sous forme d'urée représente donc environ 96.09 p. 100 de la quantité mise en expérience.

Dilution à 1 millionième (1/1.000.000). — La même méthode, appliquée à une solution contenant 1 milligramme (0 gr. 001) d'urée par litre, permet d'isoler, après 17 heures, l'urée dixanthylée. Le précipité, recueilli par centrifugation, lavé à l'alcool froid, est épuisé par ce solvant au reflux (20 cent. cubes).

L'urée cristallise par refroidissement en filaments groupés caractéristiques. Elle forme après essorage un feuillet brillant argenté. Sa fusion-décomposition, en tube étroit, dans la vapeur d'oxyde de phényle bouillant (261° corr.) est complète après 9 minutes.

5. IDENTIFICATION DE L'URÉE DIXANTHYLÉE. *Purification de l'urée xanthylée.* — Dans une foule de circonstances ce corps brut paraît sensiblement pur à l'analyse.

Se présente-t-il souillé d'impuretés, il est facile de s'en débarrasser en utilisant : son inaltérabilité dans les lessives alcalines bouillantes; sa très faible solubilité dans la plupart des dissolvants, et enfin sa recristallisation dans la pyridine qui, après en avoir dissous environ 1 p. 100 à l'ébullition, l'abandonne en majeure partie par refroidissement à l'état de belles aiguilles soyeuses, formées de longs filaments non groupés.

Cristallisation de l'urée xanthylée en filaments groupés. — La solution, obtenue en maintenant quelques minutes à l'ébullition, de l'alcool contenant un peu d'urée, laisse apparaître



FIG. 6.

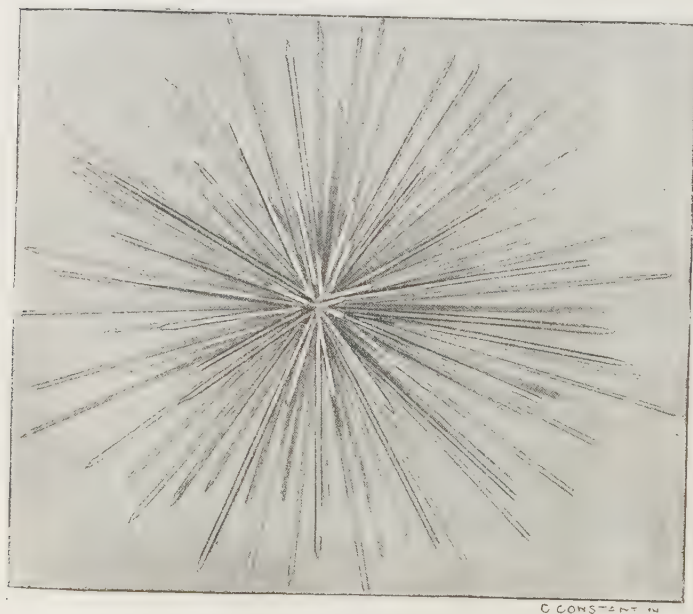


FIG. 7.

après filtration de petits cristaux brillants. Le lendemain, un des amas floconneux contenus dans le liquide, examiné au microscope, se présente sous l'aspect des figures 6 et 7.

Même lorsque la quantité d'urée est extrêmement faible, sa recristallisation est encore possible.

Cristallisation de 1/10 de milligramme (0 gr. 0001) d'urée dixanthylée. — La solution obtenue en chauffant à l'ébullition quelques minutes, dans un tube à essais, 2 cent. cubes d'alcool



FIG. 8.

avec cette quantité de matière, versée bouillante sur filtre et entonnoir chauds, est reçue dans un petit cristalliseur sortant de l'étuve. La paroi plane du vase, examinée au microscope après douze heures, apparaît recouverte de bâtonnets groupés (faible grossissement) ou de longs filaments issus d'un même point (fort grossissement), ainsi qu'en témoignent les photographies ci-jointes prises par M. Carin aux laboratoires de zoologie de l'Université de Lille (fig. 8 et 9).

Détermination de la durée de fusion-décomposition de l'urée dans la vapeur d'oxyde de phényle en ébullition (261° corr.). — La matière, enfermée en tube étroit, clos à ses deux extrémités, plongée dans la vapeur de l'éther phénylique en ébullition,

conserve sa couleur blanche et l'état solide pendant plusieurs minutes, puis se colore et fond en se décomposant avec formation d'un liquide coloré. L'extrémité supérieure du petit tube présentée à la flamme produit une légère déflagration.

L'urée très pure, ayant subi plusieurs cristallisations, exige au moins 15 minutes de chauffage dans ces conditions pour être complètement fondue. Une trace d'impureté abaisse la durée de sa fusion-décomposition.

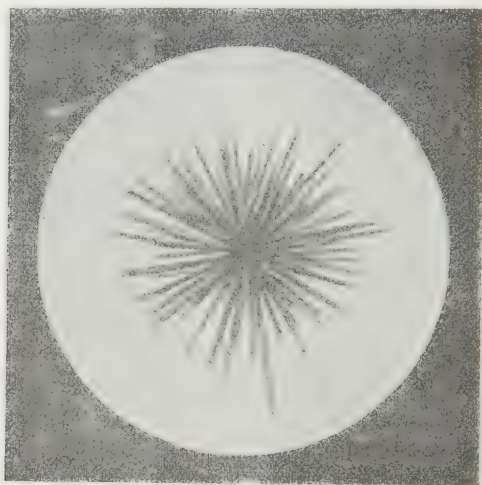


FIG. 9.

Analyse quantitative de l'urée. — Pour baser sur l'analyse quantitative de l'azote, l'identification de l'urée et par suite celle de l'urée, on a le choix entre deux méthodes :

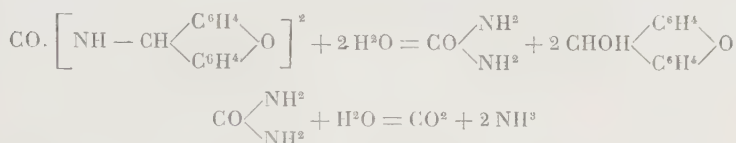
1. Le dosage volumétrique, d'après la méthode de Dumas qui, dans les conditions de son emploi courant, sans pompe à mercure, conduit, ici comme ailleurs, à des chiffres légèrement plus forts que ne l'indique la théorie.

2. Le titrage alcalimétrique, d'après Schlöesing, de l'ammoniaque, formée par hydrolyse sulfurique. Cette dernière méthode, très rapide, donne des résultats rigoureux si l'on a soin de déterminer, au préalable, l'ammoniaque inclus dans les réactifs employés et de faire usage pour la partie descendante de l'appareil distillatoire, non de verre à souffler ordi-

naire, mais de cristal incapable de céder au distillat des traces appréciables d'alcalinité.

Ces constatations ont été faites au cours d'un grand nombre d'analyses, ayant pour but de déterminer le degré de pureté de l'urée précipitée dans des milieux de concentration variable en xanthidol.

Si, pour produire l'hydrolyse de l'urée, on se contente de chauffer ce corps avec de l'acide sulfurique seul, tout l'azote passe bien à l'état d'ammoniaque



Mais une partie du xanthidol formé réagit sur lui-même en produisant de la xanthone et du xanthane entraînable pendant la distillation de l'ammoniaque par la vapeur d'eau.

Le xanthane neutre, sans action sur les indicateurs et les résultats du titrage, offre cependant l'inconvénient de souiller l'intérieur du réfrigérant et de communiquer une légère opalescence au distillat.

Ce liquide est, au contraire, parfaitement limpide si l'on provoque l'hydrolyse par l'acide sulfurique contenant un peu de sulfate mercurique, ainsi que le comporte d'ailleurs la méthode de Kjeldahl. Dans ces conditions, le xanthidol ne produit pas de xanthane, mais passe par oxydation à l'état de xanthone, non entraînable sensiblement dans les conditions de l'expérience.

Enfin, il n'est point nécessaire, comme dans la méthode de Kjeldahl, de détruire la matière organique, ce qui exigerait ici un temps considérable par suite de l'extrême résistance de la xanthone à l'oxydation. Un court chauffage au voisinage de l'ébullition (30 minutes au maximum) suffit très largement.

CHAPITRE V

ANALYSE QUANTITATIVE GRAVIMÉTRIQUE DE L'URÉE

Cette méthode diffère essentiellement de celles qui sont en usage par son principe et le contrôle dont elle est susceptible.

Au lieu de détruire la carbamide et de ramener son dosage à la mesure de ses produits de décomposition, nous la transformons en son dérivé dixanthylé caractéristique, que nous pesons.

Tandis qu'on ne peut vérifier si l'azote ou l'ammoniaque, recueillis dans les procédés actuels de dosage, proviennent de l'urée ou d'une autre substance azotée, il est, au contraire, possible et facile de contrôler par l'analyse élémentaire aussi bien l'identité que la pureté du précipité.

Nous avons d'abord utilisé un procédé directement applicable à des liqueurs de richesse en urée, très variable, depuis quelques centigrammes jusqu'à 25 grammes par litre. Les chiffres obtenus pour ces diverses concentrations étaient très approchés. Comme la concentration en xanthidrol alcoolique et la durée de la condensation variaient dans de vastes limites, nous avons été conduit à instituer une méthode de dosage de l'urée dans des milieux contenant des proportions fixes de xanthidrol, d'acide acétique, d'eau et d'alcool, afin de diminuer et de fixer le temps nécessaire à la précipitation complète de l'urée.

Deux milieux ont été choisis : l'un pour des concentrations en urée supérieures à 1 gramme par litre; l'autre pour des concentrations inférieures à 1 gramme.

Avant d'étudier ces deux procédés auxquels nous donnons toujours actuellement la préférence, nous décrirons d'abord celui qui est signalé et utilisé dans nos premières recherches.

I. DOSAGE DE L'URÉE EN MILIEU ACÉTIQUE A 50 P. 100 AVEC QUANTITÉS VARIABLES DE XANTHIDROL ET D'ALCOOL. — *Mode opératoire.* — Une portion de la liqueur d'urée, étendue de son

volume d'acide acétique cristallisable, est pourvue d'un certain volume de solution alcoolique de xanthydrol à 1/20 (30 cent. cubes environ pour 0 gr. 10 d'urée) et de la même quantité d'acide acétique.

La durée de condensation varie et nécessite un certain nombre d'heures.

Dans le cas d'une solution très concentrée en urée (20 grammes par exemple), nécessitant l'emploi d'un milieu très chargé en alcool, la vitesse de précipitation s'approche d'un minimum. On laisse alors la condensation se produire pendant une douzaine d'heures. Le précipité n'est recueilli que le lendemain.

Le rapport des poids moléculaires

$$\frac{\text{CO} \left[\text{NH} - \text{CH} \begin{array}{c} \text{C}^6\text{H}^4 \\ \text{C}^6\text{H}^4 \end{array} \text{O} \right]_2}{\text{CO. NH}^{2.2}}$$

étant égal à :

$$\frac{420}{60} \text{ ou } 7,$$

le poids d'urée, contenu dans le volume de liqueur examiné, sera égal au poids d'urée divisé par 7.

Les valeurs numériques, obtenues en appliquant la méthode au dosage d'une solution d'urée de titre inconnu, ne peuvent être considérées comme exactes, qu'autant que le poids d'urée, recueilli après 12 heures de condensation, est très sensiblement inférieur à celui du xanthydrol mis en réaction.

Ces deux quantités sont-elles voisines? On doit recommencer le dosage en diluant la liqueur à titrer ou en augmentant la proportion de xanthydrol.

2. ANALYSE DE LIQUEURS DE CONCENTRATION, EN URÉE, SUPÉRIEURE A 1 GRAMME PAR LITRE. — Cette méthode a été instituée en vue de l'examen de l'urine, ainsi que pour permettre d'obtenir aisément la dixanthylurée en quantité suffisante pour l'analyse élémentaire et à un degré connu de pureté.

Elle est applicable directement au titrage de solutions dont la teneur en urée est comprise entre 1 gramme et 5 grammes et, après dilution, à celles dont la concentration dépasse ce maximum.

COMPOSITION DU MILIEU DE PRÉCIPITATION.

Solution d'urée.	1 » cent. cube.	20 cent. cubes.
Acide acétique cristallisable	3,5	70
Solution de xanthidrol à 1/10 dans l'alcool absolu.	0,5	10 —
	5 » cent. cubes.	100 cent. cubes.

Mode opératoire A. — La solution d'urée est additionnée d'abord de 3,5 fois son volume d'acide acétique puis de son demi-volume de xanthidrol alcoolique.

Après 1 heure, la bouillie blanche, cristallisée, est essorée, lavée à l'alcool, séchée, pesée et analysée.

TITRE EN URÉE (litre)			POIDS D'URÉE			RAPPORT du XANTHYDROL à l'urée dans le mélange réactionnel	ANALYSE DE L'URÉE Théorie N p. 100 6,66. Trouvé N p. 100 par la méthode de DUMAS
Théorie	Trouvé	Erreur	Théorie	Trouvé	Erreur p. 100		
5 gr.	4,93	— 0,07	0,05	0,0493	— 1,4	10	6,72
	4,955	— 0,045	»	0,04955	— 0,9	»	6,77
	4,934	— 0,066	»	0,04934	— 1,32	»	6,77
2 gr.	2,04	+ 0,04	0,02	0,0204	+ 2 »	25	6,67
1 gr.	1,0083	+ 0,0083	0,02	0,02017	+ 0,85	50	6,58
	1,011	+ 0,011	0,02022	+ 1,1	»	

Si on compare les résultats du titrage de la solution d'urée à 5 grammes avec ceux des liqueurs moins concentrées qui suivent, on constate que l'erreur commise change de signe. Tandis qu'elle est par défaut et oscille autour de — 1 p. 100 pour le titre de 5 grammes, elle s'élève à + 2 p. 100 pour la liqueur à 2 grammes.

L'explication de ce fait, qui peut paraître assez singulier *a priori*, nous est donnée par l'analyse élémentaire. Celle-ci établit que la teneur en azote de l'urée décroît légèrement, et que par conséquent sa pureté diminue également, lorsque le rapport du xanthidrol à l'urée augmente dans le mélange réactionnel.

Mode opératoire B. — L'urée est plus pure à l'analyse et

l'erreur d'approximation de signe constamment négatif si, au lieu d'introduire en une seule fois le xanthidrol, on l'ajoute par petites portions.

Un volume de la liqueur d'urée reçoit d'abord 3,5 fois son volume d'acide acétique, puis son demi-volume de solution de xanthidrol à 1/10 dans l'alcool méthylique, introduit en cinq fractions égales et à 10 minutes d'intervalle. Les cristaux sont recueillis 1 heure après la dernière addition.

Analyse de l'urée. — La méthode de Dumas conduit à des nombres un peu *trop élevés*; celle de Schläesing donne des chiffres plus approchés, *par défaut*, et permet de reconnaître des variations assez faibles dans le degré de pureté de l'urée, si l'on observe les précautions que nous avons déjà eu l'occasion de signaler à propos de l'identification de l'urée.

ANALYSE DE L'URÉE PURE, AYANT SUBI DEUX CRISTALLISATIONS.

THÉORIE N p. 100	TROUVÉ N p. 100 PAR LA MÉTHODE DE	
	DUMAS	SCHLÆSING
6,66	6,85	6,661

Dosage de l'urée dans des liqueurs titrées de 1 à 5 grammes, et analyse de l'urée brute, totale, précipitée.

TITRE EN URÉE (litre)			POIDS D'URÉE			RAPPORT du XANTHYDROL à l'urée dans le mélange	ANALYSE DE L'URÉEINE totale Trouvé N p. 100 par la méthode de :	
Théorie	Trouvé	Erreur	Théorie	Trouvé	Erreur p. 100		DUMAS	SCHLÆSING
1 gr.	0,9925	— 0,0075	0,02	0,01985	— 0,7	50	6,64	
	0,990	— 0,01	"	0,0198	— 1	"	52
2 gr.	1,98	— 0,02	"	0,0198	— 1	25	6,68	
	1,978	— 0,022	"	0,01978	— 1,05	"	6,57
3 gr.	2,943	— 0,057	"	0,01962	— 1,8	16,6	6,74	
	2,932	— 0,068	0,04	0,0391	— 2,1	"	6,58 6,60
4 gr.	3,914	— 0,006	0,02	0,01957	— 2,1	12,5	6,78	
	3,907	— 0,093	0,04	0,039017	2,3	"	6,63
	3,90	— 0,10	"	0,039	2,5	"	
5 gr.	4,884	— 0,116	0,025	0,02442	— 2,2	10 "	6,83	
	4,856	— 0,114	"	0,02428	— 2,3	6,66 6,63

Les chiffres obtenus en dosant de cette manière une liqueur de titre inconnu ne seront considérés comme exacts, qu'autant que le poids d'urée recueilli sera inférieur ou au plus égal aux $\frac{7}{10}$ du xanthydrol mis en expérience. En d'autres termes, pour précipiter l'urée dans les conditions de nos expériences de dosage, nous mettons en œuvre 10 fois au moins son poids de xanthydrol pur.

3. ANALYSE QUANTITATIVE GRAVIMÉTRIQUE DE L'URÉE DANS L'URINE.

— *Des matériaux de l'urine, l'urée est le seul, qui, dans des conditions données, précipite le xanthydrol :*

a) De l'urine humaine est traitée par la graine de *Soja hispida*, réduite en poudre, et du chloroforme, à la température ordinaire ou à 45°, jusqu'à ce que la recherche de l'urée conduise à un résultat négatif.

Le mélange formé par cette urine, filtrée, diluée à $\frac{1}{10}$ (10 cent. cubes), de l'acide acétique (35 cent. cubes) et du xanthydrol méthylique à $\frac{1}{10}$ (5 cent. cubes), était encore rigoureusement limpide après 12 heures d'abandon à la température du laboratoire.

b) Même résultat avec l'urine du cheval.

Influence des protéiques sur le titrage de quantités connues d'urée, ajoutées à l'urine, dépouillée de son urée par contact avec la graine du Soja hispida. — L'expérience exécutée avec une telle solution donne des nombres légèrement trop forts.

La cause en est à la présence des albuminoïdes cédés à l'urine par le végétal.

Quoique ces substances, ainsi que nous l'avons précédemment indiqué, ne précipitent pas le xanthydrol en milieu acétique, elles sont, cependant, susceptibles de souiller les cristaux d'urée et de provoquer ainsi de faibles erreurs *par excès*.

Les élimine-t-on à l'aide du réactif de Tanret ? Le dosage de l'urée dans la solution désalbuminée conduit alors à une erreur *par défaut*, comparable à celle commise en titrant de la même manière une liqueur aqueuse d'urée, de concentration semblable.

Les résultats obtenus sont, d'autre part, très voisins, si l'on soumet à l'analyse l'urée, précipitée dans les mêmes conditions, soit de cette urine désalbuminée, soit de l'urine sans albu-

mine ou d'une solution d'urée au même titre dans l'eau pure.

POIDS D'URÉE			TITRE EN URÉE (LITRE)			ANALYSE DE L'URÉE. Théorie N 0/0, 6,66. Trouvé N 0/0.
Théorie	Trouvé	Erreur p. 100	Théorie	Trouvé	Erreur	
<i>Urine humaine avec protéïques, traitée par le soja, puis acétifiée et pourvue d'urée en quantité connue.</i>						
0 ^g 020028	0 ^g 02007	+ 0 ^s 21	20 ^s 028	20 ^s 07	+ 0 ^s 042	
<i>Même urine, sans protéïques.</i>						
0 ^g 020028	0 ^g 0199	— 0 ^g 6	20 ^g 028	19 ^g 90	— 0 ^g 128	6,59
<i>Autre urine, sans protéïques.</i>						
»	0 ^g 01928	»	19 ^g 28	6,64
<i>Liquueur titrée d'urée dans l'eau.</i>						
0,020	0 ^g 01984	— 0 ^g 8	20 ^g 00	19 ^g 84	— 0 ^g 16	6,62

TECHNIQUE DU DOSAGE DE L'URÉE DANS L'URINE.

Voici, en nous réservant de lui faire subir les modifications ultérieures, la méthode que nous avons longtemps suivie.

COMPOSITION DU MILIEU DE PRÉCIPITATON.

Urine diluée à 1/10	10 cent. cubes.
Acide acétique cristallisable	35 —
Solution de xanthidrol à 4/10 dans CH ³ OH.	5 —

Mode de précipitation. — Une fiole conique à bec reçoit successivement l'urine diluée et mesurée avec précision, l'acide acétique, puis à cinq reprises et à dix minutes d'intervalle 1 cent. cube de xanthidrol méthylique.

Durée de la condensation après la dernière addition du réactif : 1 heure.

Essorage à la trompe sur filtre plan. — On peut faire usage d'un entonnoir de porcelaine Buchner, à la partie perforée duquel adhère intimement un filtre parcheminé, préalablement assoupli dans l'eau, empiétant sur la paroi cylindrique.

Essorage à la trompe sur filtre concave. — Ce procédé de

filtration, qui n'avait pas encore été employé, à notre connaissance, permet de recueillir, aisément et sans la moindre perte possible, l'uréine, en mettant à profit *la propriété que possè-*

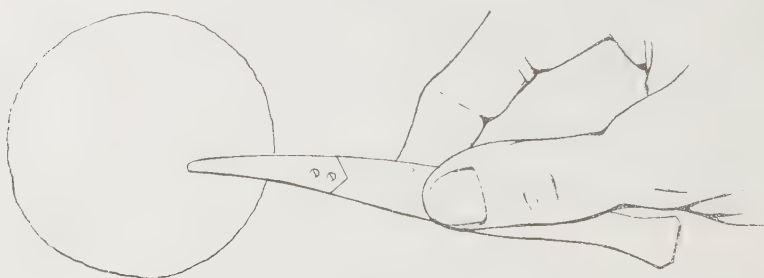


FIG. 10.

dent ses cristaux de former par feutrage un tissu blanc, brillant, rigide, transportable à l'aide de la pince (fig. 10).

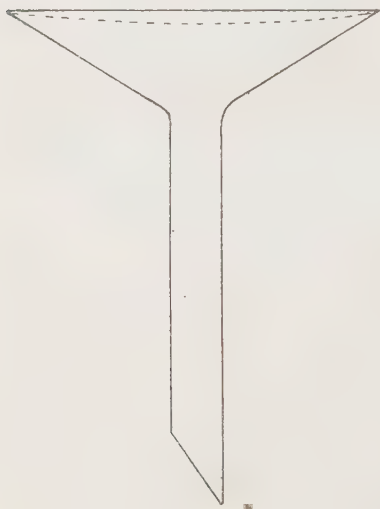


FIG. 11.

L'appareil que nous utilisons est formé d'une calotte sphérique en argent (1), criblée de petits trous et d'un entonnoir de même métal soudés par la circonférence de leur base circulaire, la concavité du diaphragme placée à l'extérieur (fig. 11).

Le filtre, fendu suivant un rayon, est appliqué humide sur la calotte; il en épouse exactement la surface si l'on fait légèrement empiéter un de ses bords rectilignes sur l'autre.

Après essorage de la bouillie cristalline, lavage à l'alcool, on porte quelques minutes à l'étuve le filtre et son précipité; celui-ci s'en détache spontanément par dessiccation. On le pèse directement sur le plateau de la balance de précision.

(1) Rayon de la sphère : 167 millimètres; diamètre du cercle de base : 7 centimètres.

Il est facile de confectionner soi-même, rapidement, et à peu de frais, un entonnoir à paroi filtrante concave. A la flamme d'un brûleur, on détache le disque perforé d'une passoire (fig. 12). Après l'avoir fixé au moyen du pouce sur un entonnoir de verre d'ouverture convenable, tenu par la main gauche, on coule, avec la droite, de la paraffine entre la paroi interne supérieure de l'entonnoir et le rebord extérieur cylindrique du diaphragme.

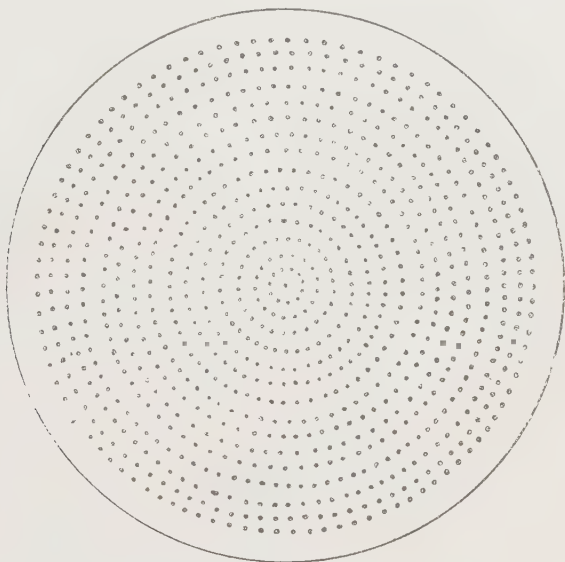


FIG. 12.

Comme le rayon de courbure de cette surface est très grand, il n'est point nécessaire de fendre le filtre pour obtenir l'adhérence complète entre les deux parois.

Cet appareil peut être construit d'une autre manière. On fait choix d'un entonnoir de verre, tel que sa base puisse pénétrer à frottement dur dans la partie cylindrique constituée par le rebord du diaphragme. L'entonnoir est obturé par la pièce métallique. La surface de celle-ci ayant été rendue concave par pression avec les doigts, on coule de la paraffine entre le rebord métallique du filtre et la paroi de l'entonnoir (fig. 13).

On peut enfin, sans inconvénients, substituer aux papiers parcheminés spéciaux, un double filtre ordinaire.

Après avoir bien imbibé d'eau *deux* disques juxtaposés de papier à filtrer d'usage courant, on les pose sur le diaphragme. L'aspiration de la trompe et quelques légères compressions avec les doigts réalisent l'union intime des deux surfaces.

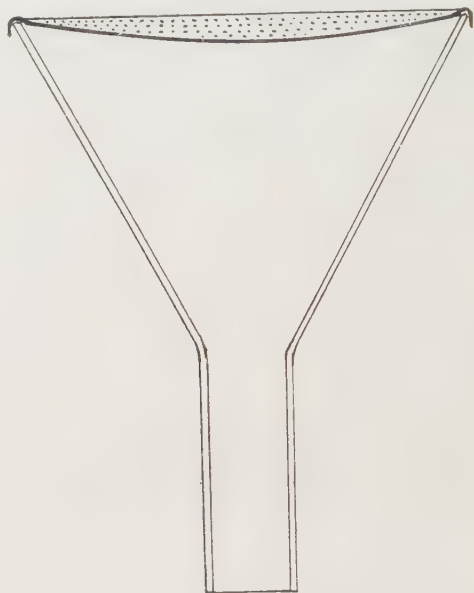


FIG. 13.

4. DOSAGE DE L'URÉE DANS DES LIQUEURS DE CONCENTRATIONS COMPRIS ENTRE 0 GR. 100 ET 1 GRAMME PAR LITRE. — Cette méthode permet de titrer l'urée pour des concentrations comparables à celles qui se présentent dans le sang de l'homme et des animaux.

Si l'on soumet à l'analyse gravimétrique un centigramme (0 gr. 01) d'urée, empruntée à des liqueurs dont la concentration varie entre 0 gr. 100 et 1 gramme par litre, on constate que l'erreur commise, par excès ou par défaut, *affecte généralement la troisième décimale du titre, plus rarement la deuxième.*

En opérant sur des quantités encore plus petites, 2 milligrammes à 2 milligr. 1/2 (0 gr. 002 à 0 gr. 0025) d'urée et en déterminant les faibles poids d'urée correspondants (0 gr. 014 et 0 gr. 0175 environ) à l'aide d'une balance d'ana-

lyse *ordinaire* (1), on obtient encore, au signe près de l'erreur commise, des résultats très voisins des précédents.

COMPOSITION DU MILIEU DE PRÉCIPITATION.

Solution d'urée.	1 cent. cube
Acide acétique cristallisable.	2 —
Liqueur méthylque de xanthidrol à 1/10	$3 \times \frac{1}{20}$.

Mode opératoire A. — La solution d'urée, exactement mesurée, étendue de deux fois son volume d'acide acétique, reçoit à trois reprises et à dix minutes d'intervalle 1/20 de son volume de xanthidrol méthylque. Le précipité est recueilli 1 heure après la dernière addition du réactif.

Mode opératoire B. — Le mélange formé par 1 volume de solution d'urée et 2 volumes d'acide acétique est additionné d'une quantité de xanthidrol méthylque égale à 1/20 du volume total. Durée de la condensation : 1 heure.

L'analyse de l'urée totale démontre que sa pureté diminue légèrement, lorsque le rapport du xanthidrol à l'urée augmente dans le milieu qui lui a donné naissance.

Dosage de petites quantités d'urée dans des liqueurs
de concentrations comprises entre 0 gr. 100 et 1 gr. par litre.

TITRE EN URÉE (litre)			POIDS D'URÉE		POIDS D'URÉE		RAPPORT du XANTHIDROL à L'URÉE	ANALYSE DE L'URÉE Théorie N p. 100. 6,66. Trouvé N p. 100 par la méthode de	
Théorie	Trouvé	Erreur	Théorie	Trouvé	Théorie	Trouvé		DUMAS	SCHLESING
0 gr 100	0 gr 1024	+ 0 gr 0024	0 gr 07	0 gr 0717	0 gr 01	0 gr 01024	150	6,30
	0,1023	+ 0,0023	0,0716	0,01023			
	0,103	+ 0,003	0,.....	0,0721	0,0103			
	0,096	— 0,004	0,0175	0,0169	0,0025	0,00241			
	0,098	— 0,002	0,0172	0,00245			
	0,098	— 0,002	0,0172	0,00245			
	0,099	— 0,001	0,014	0,0139	0,002	0,00198			
	0,096	— 0,004	0,0135	0,00192			
	0,096	— 0,004	0,0135	0,00192			
	0,096	— 0,004	0,0135	0,00192			

(1) Ces expériences seront reprises avec un instrument plus sensible.

TITRE EN URÉE (litre.)			POIDS D'UREINE		POIDS D'URÉE		RAPPORT du XANTHYDROL à L'URÉE	ANALYSE DE L'URÉE Théorie N p. 100 6,66 Trouvé N p. 100 par la méthode de	
Théorie	Trouvé	Erreur	Théorie	Trouvé	Théorie	Trouvé		DUMAS	SCHLÖESING
0g 125	0g 128	+ 0g 003	0,07	0g 0722	0,01	0g 0103	120	6,31
	0,128	+ 0,003	0,0722	0,0103			
	0,123	+ 0,002	0,0175	0,0173	0,0023	0,00247			
	0,123	— 0,002	0,0173	0,00247			
	0,122	— 0,003	0,0171	0,00244			
0g 200	0g 201	+ 0g 001	0g 07	0g 0704	0g 01	0g 01005	75		
	0,202	+ 0,002	0,0709	0,0101			
	0,202	+ 0,002	0,014	0,0142	0,002	0,00202			
	0,204	+ 0,004	0,0143	0,00204			
	0,201	+ 0,001	0,0141	0,00201			
	*0,198	— 0,002	0,0139	0,00198			
	*0,201	+ 0,001	0,0142	0,00202			
	*0,2001	+ 0,0001	0,0141	0,00201			
0g 250	0g 2514	+ 0g 0014	0g 07	0g 0704	0g 01	0g 00057	60	6g 50	6,41
	0,250	0	0,07	0,01			
	*0,2517	+ 0,0017	0,0705	0,01007			
	*0,2525	+ 0,0025	0,0707	0,0101			
	*0,248	— 0,002	0,0175	0,0174	0,0025	0,00248			
	0,247	— 0,003	0,0173	0,00247			
	0,247	— 0,003	0,014	0,0139	0,002	0,00198			
	0,251	+ 0,001	0,0141	0,00201			
0g 500	0g 500	0g	0g 14	0g 14	0g 02	0g 02	30	6g 62	6,44
	0,4995	— 0,0005	0,1399	0,01998			
	0,5002	+ 0,0002	0,1401	0,02001			
	0,500	0	0,07	0,07	0,01	0,01			
	0,500	0	0,07	0,01			
	*0,498	— 0,002	0,0698	0,00997			
	*0,498	— 0,002	0,0698	0,00997			
	*0,505	+ 0,005	0,0707	0,0101			
	0,500	0	0,0175	0,0173	0,0025	0,0025			
	0,496	— 0,004	0,0174	0,00248			
	*0,500	0	0,0175	0,0025			
	*0,496	— 0,004	0,0174	0,00248			
	*0,502	+ 0,002	0,014	0,0141	0,002	0,00201			
	*0,492	— 0,008	0,0138	0,00197			
1g 00	0g 979	— 0g 021	0g 14	0g 1371	0g 02	0g 01038	15	6g 71	6,55
	0,981	— 0,019	0,1371	0,01962			
	0,980	— 0,02	0,1372	0,01960			
	0,985	— 0,015	0,014	0,0138	0,002	0,00197			
	0,983	— 0,015	0,0138	0,00197			
	*0,975	— 0,025	0,0137	0,00195			
	*0,975	— 0,025	0,0137	0,00195			
	*0,985	— 0,015	0,0138	0,00197			

* Les résultats précédés d'un astérisque correspondant au mode opératoire B; les autres au mode opératoire A.

5. DOSAGE DE L'URÉE DANS LE SANG (exécuté avec MM. A. ROBYN et F. FRANÇOIS). — On vient de voir quels sont au double point de vue de l'approximation numérique et de la pureté du précipité les résultats obtenus en dosant pondéralement de très petites quantités d'urée, 2 milligrammes à 2 milligr. $1/2$ (0 gr. 002 à 0 gr. 0025), empruntées à des solutions dont le titre variait entre 0 gr. 100 et 1 gramme.

Nous nous proposons d'appliquer maintenant cette méthode au dosage clinique de l'urée dans le sang.

L. Hugounenq et A. Morel (1) ont déjà utilisé avec succès le xanthydrol dans ce but. Ces auteurs précipitent l'albumine du sérum par l'alcool, concentrent au bain-marie la majeure partie du filtrat, étendent le produit d'évaporation à un volume connu par de l'alcool à 25 p. 100, de l'acide acétique contenant 1 gramme de xanthydrol et enfin de l'alcool à 95°. Après 24 heures ils recueillent le précipité, le lavent à l'alcool saturé d'urée et à son poids ajoutent un chiffre correcteur.

Notre méthode, dont la durée d'exécution complète n'excède pas 2 heures, consiste à précipiter directement l'urée du sérum, dépouillé à froid de ses protéiques.

Élimination des albuminoïdes du sérum. — Il est possible de condenser l'urée et le xanthydrol, directement au sein du sérum, dissous dans quantité suffisante d'acide acétique; mais l'urée dixanthylée ainsi formée est impure, elle englobe de petites quantités d'albumine que des lavages prolongés sont impuissants à lui enlever.

L'analyse révèle encore que ce corps possède une teneur azotée notablement supérieure à la théorie, si l'on opère sur le sérum imparfaitement désalbuminé, tel qu'il se présente, par exemple, après 1 heure de chauffage vers 70-80°, avec son volume d'eau acétifiée à 1 p. 100, et sans addition de matière saline.

L'urée ne retient plus sensiblement d'albumine si l'on provoque sa formation dans du sérum préalablement déféqué par l'iodomercurate acétique de Tanret.

Nous avons utilisé cet excellent réactif en augmentant sa

(2) LOUIS HUGOUCENQ et A. MOREL, *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 17 mai 1913, t. LXXIV, p. 1053, et 14 mars 1914.

concentration, afin de faciliter les manipulations et d'éviter de trop diluer le sérum.

MILIEU ADOPTÉ POUR LA PRÉCIPITATION DE L'URÉE.

Eau.	1 cent. cube
Acide acétique cristallisable	2
Solution méthylque de xanthyrol à 1/10 . .	$3 \times \frac{1}{20}$

RÉACTIF DE TANRET CONCENTRÉ.

Chlorure mercurique	28.71
Iodure de potassim.	7.2
Acide acétique cristallisable.	66 ^{cmc} , 6

Mode opératoire. — On introduit à l'aide d'une pipette à deux traits, dans un tube à centrifuger, 10 cent. cubes de sérum et le même volume d'iodomercurate acétique. Le tout intimement mélangé à l'aide d'une baguette de verre, soumis à la force centrifuge, donne environ 17 cent. cubes de liquide limpide. Une fiole conique à bec reçoit successivement une partie aliquote de celui-ci, 15 cent. cubes, le même volume d'acide acétique et enfin une quantité de xanthyrol méthylque, égale à 1/20 du volume total, c'est-à-dire ici 1 cent. cube 5.

On peut aussi faire ces mesures et opérer sur la presque totalité du sérum désalbuminé à l'aide de burettes à robinet, graduées à 1/20 de cent. cube, portant le zéro de la graduation sur une partie rétrécie voisine de la douille.

Enfin, si l'on ne dispose pas de centrifugeuse, on essore à la trompe le mélange de 10 cent. cubes de sérum et de 10 cent. cubes d'iodomercurate, puis à 10 cent. cubes du liquide limpide on ajoute 10 cent. cubes d'acide acétique et 1 cent. cube de xanthyrol méthylque.

Après 1 heure de condensation, on essore à la trompe sur filtre concave d'après la méthode indiquée. On versera la bouillie cristalline vers le centre du filtre de manière à en recouvrir constamment une même surface peu étendue, au plus égale à celle d'une pièce de 2 francs s'il s'agit de sérum humain normal. Après lavage à l'alcool, dessiccation quelques minutes à l'étuve, on pèse le petit disque directement sur le plateau de la balance de précision.

Calcul des résultats. — L'urée correspondante à la partie aliquote considérée est égale au poids d'urée obtenue, divisé par 7.

Si l'on suppose, ce qui n'est pas absolument rigoureux, que le volume du mélange déféqué, soumis au dosage, correspond à son demi-volume de sérum, on commet, en basant les calculs sur cette donnée, une erreur par excès, qui n'affecte cependant que la deuxième ou la troisième décimale du titre.

Le titre ainsi calculé devient alors, en partant de 10 cent. cubes de sérum et en désignant par n le nombre de centimètres cubes du mélange déféqué qui ont donné un poids p d'urée :

$$\text{Urée par litre de sérum} = \frac{p}{7} \times \frac{10 \times 2}{n} \times 100 \text{ grammes.}$$

En précipitant l'urée contenue dans 15 cent. cubes de sérum déféqué, l'expression devient :

$$\text{Urée par litre de sérum} = \frac{p}{7} \times \frac{10 \times 2}{15} \times 100 \text{ grammes.}$$

Si l'on opère sur un volume de liquide déféqué égal seulement au volume de sérum, c'est-à-dire à 10 cent. cubes, le titre est représenté par :

$$\text{Urée par litre de sérum} = \frac{p}{7} \times 2 \times 100 \text{ grammes.}$$

Nous avons été heureux de pouvoir appliquer cette méthode à l'analyse du sang d'un assez grand nombre de malades des hôpitaux de Lille.

Le professeur Combemale nous a appris que ces déterminations avaient rendu d'importants services dans le diagnostic et le traitement, ce qui confirme, une fois de plus, les résultats des recherches du professeur Vidal et de ses élèves sur l'azotémie.

Séparé de plusieurs de nos registres de laboratoire, nous regrettons de ne pouvoir faire figurer ici les chiffres obtenus en titrant l'urée dans le sang d'individus, sains ou atteints de maladies variées.

Chez les premiers, le titre oscillait entre 0 gr. 2 et 0 gr. 5 pour s'élever chez les autres à 1 et plusieurs grammes.

Dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien d'un malade en coma urémique, nous avons trouvé, quelques heures avant

sa mort, le chiffre exceptionnel de 7 grammes d'urée par litre.

De semblables déterminations ont été faites chez le cheval, le bœuf, le veau, le chien, le porc, le mouton et le lapin.

Dans le cas du porc, il faut, en général, pour précipiter en totalité les protéiques, accroître la concentration de réactif désalbuminant en iodomercurate.

Le sérum du lapin, normalement alimenté, contient environ 0 gr. 125 d'urée par litre. Si on lui impose le jeûne absolu, l'urée s'élève progressivement à plusieurs grammes. C'est ainsi que nous avons trouvé 5 grammes d'urée dans le sérum de cet animal, privé d'aliments solides et d'eau durant 7 jours.

6. DOSAGE DE L'URÉE DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN, LE LAIT ET LES PURÉES D'ORGANE. — La méthode précédente est applicable sans modification au liquide céphalo-rachidien et au lait.

Pour éviter des erreurs dues à la variation de la graisse, nous avons toujours opéré sur le lait écrémé par centrifugation. Les chiffres obtenus paraissent être du même ordre de grandeur que pour le sang.

La précipitation des protéiques contenus dans les purées d'organe nécessite, en général, une concentration beaucoup plus grande du réactif désalbuminant en iodomercurate.

(A suivre.)

Le Gérant : G. MASSON.